

ANA LETICIA CORONADO DORCE

Exposição pré-natal ao veneno do escorpião *Tityus bahiensis*: efeitos na prole de ratos.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de controle de Doenças da Secretaria do Estado de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

**Área de Concentração:** Pesquisas Laboratoriais em Saúde Pública

**Orientador:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ida Shigueko Sano-Martins

São Paulo

2007

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

ANA LETICIA CORONADO DORCE

Exposição pré-natal ao veneno do escorpião *Tityus bahiensis*: efeitos na prole de ratos.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de controle de Doenças da Secretaria do Estado de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

**Área de Concentração:** Pesquisas Laboratoriais em Saúde Pública

**Orientador:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ida Shigueko Sano-Martins

São Paulo

2007

## FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pelo Centro de Documentação – Coordenadoria de Controle de Doenças/SES  
©reprodução autorizada pelo autor

Dorce, Ana Leticia Coronado

Exposição pré-natal ao veneno do escorpião *Tityus bahiensis*: efeitos na prole de ratos / Ana Leticia Coronado Dorce – São Paulo, 2007.

Dissertação (mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo.

Área de concentração: Pesquisas Laboratoriais em Saúde Pública  
Orientadora: Ida Shigheko Sano-Martins

1. Venenos de escorpião/toxicidade 2. Prenhez 3. Comportamento animal 4. Pesquisa comportamental 5. Animais recém-nascidos

SES/CCD/CD-167/07

*“O valor das coisas não está no tempo que elas duram, mas na intensidade com que acontecem. Por isso, existem momentos inesquecíveis, coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis”.*

**Fernando Pessoa**

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todas as pessoas especiais que passaram em minha vida e me deram o privilégio de conhecê-las nessa longa caminhada:

*“A minha mãe, ao meu pai e a minha irmã pelos momentos felizes e inesquecíveis que passamos juntos e que me proporcionaram muita alegria e amor durante toda minha vida”.*

*“Ao meu namorado Dino pelo amor, amizade, incentivo e compreensão e por me ajudar em todos os momentos e a superar os obstáculos da vida”.*

*“A Dr<sup>a</sup> Ana Leonor Abrahão Nencioni e a Dr<sup>a</sup> Valquíria Abrão Coronado Dorce pela amizade, compreensão e ensinamentos. Agradeço pelo profissionalismo e por terem acreditado em mim e, pela contribuição profissional e pessoal em minha vida”.*

## AGRADECIMENTO ESPECIAL

A Dr<sup>a</sup>. Ana Leonor Abrahão Nencioni, minha orientadora no trabalho de conclusão do curso de graduação e co-orientadora dessa dissertação, pela relevante contribuição no desenvolvimento das atividades técnicas e de orientação na análise final dos resultados dos experimentos desse trabalho, pela crença em minhas possibilidades e estímulo na busca de novos conhecimentos.

## AGRADECIMENTO

A todos os amigos e pesquisadores do Instituto Butantan em especial ao pessoal do Laboratório de Farmacologia: Aline, Thalma, Luciene, Cíntia, Marcela, Bianca, Dr<sup>a</sup> Geane, Dr<sup>a</sup> Valquíria e Dr. Isaltino pela maravilhosa companhia de vocês durante todo esse tempo.

A Dr<sup>a</sup> Ana Leonor Abrahão Nencioni pela amizade ensinamentos e companheirismo durante todos esses anos de Butantan. Pela orientação técnica e pela ajuda na realização deste trabalho.

A Dr<sup>a</sup> Ida Sigueko Sano-Martins agradeço pelo inestimável espírito de colaboração sem o qual nada teria sido possível.

Ao Instituto Butantan e a Fundação Butantan.

A todos da Secretaria de Pós-Graduação da área de concentração em Pesquisas Laboratoriais em Saúde Pública.

Aos professores dos cursos de Pós-Graduação que contribuíram para minha formação acadêmica.

Exposição pré-natal ao veneno do escorpião *Tityus bahiensis*: efeitos na prole de ratos.

No Brasil, os escorpiões *Tityus serrulatus* e o *Tityus bahiensis* são os mais perigosos e desenvolveram hábitos domiciliares podendo ser encontrados dentro das construções humanas. A peçonha do escorpião é conhecida por sua alta toxicidade, mas não existem estudos sobre seu efeito na prole de mães que o recebem. O objetivo do trabalho foi verificar possíveis efeitos tóxicos da peçonha do *T. bahiensis* na prole quando administrada às ratas prenhes. A dose utilizada do veneno foi 2,5mg/Kg. As fêmeas prenhes foram separadas em 3 grupos: controle (C) e experimentais injetadas com veneno no 10º dia (E10) ou no 16º dia (E16) gestacional. Na fase pós-natal, os animais foram avaliados quanto ao seu desenvolvimento físico e reflexológico. Na idade adulta foram avaliados quanto ao seu desenvolvimento comportamental. Nos filhotes de E10 houve adiantamento do desdobramento das orelhas, da erupção dos dentes e da abertura vaginal; diminuição do tempo de ocorrência do reflexo de preensão palmar no 8º dia de vida e do reflexo postural no 4º dia de vida dos machos. Na idade adulta os animais de E10 apresentaram diminuição da atividade total e da locomoção dos machos na caixa de atividade e no ambiente enriquecido; diminuição da latência para parar de nadar em fêmeas; aumento no número de entradas no braço não-aversivo e dos braços abertos do labirinto em cruz, na sessão de treinamento; diminuição do tempo de permanência no braço não-aversivo e aumento do tempo de permanência nos braços abertos do labirinto em cruz elevado, na sessão de teste. Na contagem celular feita nas áreas hipocâmpais de filhotes adultos de E10 foi observada perda neuronal significativa nas áreas de CA1 e CA3. Nos filhotes de E16 houve adiantamento do desdobramento das orelhas e erupção dos dentes; atraso da abertura dos olhos e descida dos testículos; diminuição do tempo de ocorrência do reflexo de preensão palmar no 6º e no 8º dia de vida das fêmeas e no 8º dia de vida dos machos; ocorrência em maior tempo do reflexo de geotaxia negativa no 6º e 12º dia de vida dos machos e das fêmeas e aumento da atividade geral total e de locomoção no 18º dia de vida de machos. Na idade adulta os animais de E16 apresentaram diminuição do tempo de ocorrência de interação social em fêmeas; diminuição do tempo de permanência no braço não-aversivo e aumento do tempo de permanência no braço aberto do labirinto em cruz elevado, na sessão de treinamento; aumento do tempo de permanência no braço não-aversivo, na sessão de teste. Na contagem celular feita nas áreas hipocâmpais de filhotes adultos de E16 não foi observada perda neuronal significativa. Podemos concluir, portanto, que um envenenamento moderado em ratas prenhez, causa alterações discretas no desenvolvimento físico e comportamental dos filhotes no período pós-natal e na idade adulta.

**Palavras chaves:** venenos de escorpião/toxicidade, prenhez, comportamento animal, pesquisa comportamental, animais recém-nascidos.

Prenatal exposure to the *Tityus bahiensis* venom: effects on the offspring of rats.

In Brazil, a large number of accidents happen with *Tityus serrulatus* and with *Tityus bahiensis*. The venom is acquaintance of his toxicity, although, it is unknown if the venom causes damage on offspring of mothers that received it. The objective of this work was to check possible toxic effects of the venom on offspring of pregnant rats in different periods of the fetus development. The dose of the venom was determinate in 2,5mg/Kg. The pregnant rats were separated in 3 groups and received subcutaneous injections of venom or saline. The control group received injection of saline on the 10<sup>th</sup> and 16<sup>th</sup> gestacional day. One of the experimental group (GD 10) received injection of venom on the 10<sup>th</sup> and saline on the 16<sup>th</sup> gestacional day. The other experimental group (GD 16) received injection of saline on the 10<sup>th</sup> day and venom on the 16<sup>th</sup> gestacional day. The rat pups were evaluated according their physical and neurobehavioral development. The pups in the adult life were evaluated according their behaviour development. In offspring of GD 10 were observed: advanced on the ear unfolding, incisor eruption and vaginal opening; decrease of the time of palmar grasp on the 8<sup>th</sup> day of life and on the surface righting on the 4<sup>th</sup> day of life in male. In the adult life were observed: decrease of the general activities and of the locomotion in male on the activite box and on the environment enriched; decrease of the time to stop swimming on the forced swim; increase of the number of entrace on the open arms and on the non aversive arms of the plus-maze, in the training session; decrease of the time of permanence on the non- aversive arms and increase of the time of permanence on the open arms of the plus-maze, in the test session. In offspring of GD 16 were observed: advance on the ear unfolding and incisor eruption; delay on the eyes opening and testicle declivity; decrease in the time of palmar grasp on the 6<sup>th</sup> and 8<sup>th</sup> day of life of female and decrease in the time of palmar grasp on the 8<sup>th</sup> day of life of male; increase of the time of negative geotaxis on the 6<sup>th</sup> and 12<sup>th</sup> day of life of female and male and increase of the general active and of the locomotion on the 18<sup>th</sup> day of life of male. In the adult life were observed: decrease of the time of social interaction of female; decrease of the time of permanence on the non-aversive arms and increase of the time of permanence on the open arms of the plus-maze, in the training session; increase of the time of permanence on the non- aversive arms, in the test session. Therefore, a moderate envenomation in pregnancy rats causes alteration wise in rat phisycal and neurobehaviour development of the offspring in the post-natal period and in the adult life.

**Key-words:** scorpion venom/toxicity, pregnancy, animal behavior, behavior research, newborn animals.

## ÍNDICE

1. Introdução.....	1
2. Objetivos.....	12
2.1.  Objetivo Geral.....	12
2.2.  Objetivos Específicos.....	12
3. Material e Métodos.....	13
3.1.  Sujeitos experimentais.....	13
3.2.  Drogas e Soluções.....	14
3.3.  Procedimentos.....	14
3.3.1. Cruzamento de animais e diagnóstico de prenhez.....	14
3.3.2. Avaliação indireta da intoxicação materna através da evolução ponderal.....	15
3.3.3. Padronização da ninhada e avaliação da evolução de seus pesos.....	15
3.3.4. Desenvolvimento Físico.....	16
3.3.5. Desenvolvimento Reflexológico.....	16
3.3.6. Desenvolvimento Comportamental.....	17
3.3.7. Avaliação da Integridade Neuronal.....	20
3.4.  Delineamento Experimental.....	21
3.4.1. Experimento 1 - Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião <i>Tityus bahiensis</i> sobre a avaliação indireta da intoxicação materna de ratas tratadas no 10 <sup>o</sup> ou no 16 <sup>o</sup> dia de prenhez.....	21

- 3.4.2. Experimento 2 - Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis* sobre parâmetros do desenvolvimento físico da prole de ratas tratadas no 10<sup>o</sup> ou no 16<sup>o</sup> dia de prenhez.....22
- 3.4.3. Experimento 3 - Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis* sobre parâmetros do desenvolvimento reflexológico no período pós-natal da prole de ratas tratadas no 10<sup>o</sup> ou no 16<sup>o</sup> dia de prenhez.....22
- 3.4.4. Experimento 4 – Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis* sobre a atividade geral e locomoção na prole no período pós-natal e na vida adulta, quando administrado no 10<sup>o</sup> ou no 16<sup>o</sup> dia de prenhez.....22
- 3.4.5. Experimento 5 – Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis* sobre a natação forçada na idade adulta, quando administrado no 10<sup>o</sup> ou no 16<sup>o</sup> dia de prenhez.....23
- 3.4.6. Experimento 6 – Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis* sobre o ambiente enriquecido na idade adulta, quando administrado no 10<sup>o</sup> ou no 16<sup>o</sup> dia de prenhez.....23
- 3.4.7. Experimento 7 – Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis* sobre a interação social na idade adulta, quando administrado no 10<sup>o</sup> ou no 16<sup>o</sup> dia de prenhez.....23

3.4.8. Experimento 8 – Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião <i>Tityus bahiensis</i> sobre a esquiiva discriminativa em labirinto em cruz elevado na idade adulta, quando administrado no 10º ou no 16º dia de prenhez.....	24
3.4.9. Experimento 9 - <i>Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião Tityus bahiensis sobre a integridade neuronal de filhotes de ratas tratadas no 10º ou no 16º dia de prenhez.....</i>	24
3.5. Análise Estatística.....	25
4. Resultados.....	26
4.1. Experimento 1 - Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião <i>Tityus bahiensis</i> sobre a avaliação indireta da intoxicação materna de ratas tratadas no 10º ou no 16º dia de prenhez.....	26
4.2. Experimento 2 - Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião <i>Tityus bahiensis</i> sobre parâmetros do desenvolvimento físico da prole de ratas tratadas no 10º ou no 16º dia de prenhez.....	28
4.3. Experimento 3 - Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião <i>Tityus bahiensis</i> sobre os parâmetros do desenvolvimento reflexológico no período pós-natal da prole de ratas tratadas no 10º ou no 16º dia de prenhez.....	33
4.4. Experimento 4 – Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião <i>Tityus bahiensis</i> sobre a atividade geral e locomoção na prole no período pós-natal e na vida adulta, quando administrado no 10º ou no 16º dia de prenhez.....	40

4.5.	Experimento 5 – Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião <i>Tityus bahiensis</i> sobre a natação forçada na idade adulta, quando administrado no 10º ou no 16º dia de prenhez.....	47
4.6.	Experimento 6 – Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião <i>Tityus bahiensis</i> sobre o ambiente enriquecido na idade adulta, quando administrado no 10º ou no 16º dia de prenhez.....	50
4.7.	Experimento 7 – Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião <i>Tityus bahiensis</i> sobre a interação social na idade adulta, quando administrado no 10º ou no 16º dia de prenhez.....	53
4.8.	Experimento 8 – Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião <i>Tityus bahiensis</i> sobre a esquiva discriminativa em labirinto em cruz elevado na idade adulta, quando administrado no 10º ou no 16º dia de prenhez.....	55
4.9.	Experimento 9 - Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião <i>Tityus bahiensis</i> sobre a integridade neuronal de filhotes de ratas tratadas no 10º ou no 16º dia de prenhez.....	72
5.	Discussão.....	75
6.	Conclusões.....	94
7.	Referências Bibliográficas.....	97

## 1. INTRODUÇÃO

Os escorpiões habitam a Terra há cerca de 350 milhões de anos e mudaram muito pouco desde esta época, encontrando-se entre os mais velhos artrópodes terrestres conhecidos. Pertencem à classe *Arachnida* e ordem dos *Scorpiones* (Lourenço, 2001). A família *Buthidae* é a mais significativa entre as outras, já que possui espécies com veneno altamente tóxico ativo sobre o homem, podendo ser fatal em alguns casos. O gênero *Tityus*, pertencente a esta família, possui cerca de 60 espécies, sendo a *Tityus bahiensis* e a *Tityus serrulatus* as duas principais responsáveis pelos acidentes com humanos no Brasil.

A espécie *Tityus bahiensis* tem ocorrência mais comum no Estado de São Paulo, mas também é encontrada no Espírito Santo, Minas Gerais, Goiás, Rio de Janeiro, Santa Catarina e Mato Grosso (Lucas e Meier, 1995). Possui o corpo marrom-avermelhado com manchas pretas nas patas e mede cerca de 6 a 7 centímetros (Perty, 1834).

O corpo dos escorpiões consiste em um prossoma revestido por uma carapaça e abdômen longo que termina no aparelho inoculador de veneno, o ferrão. Possuem quelíceras pequenas com garras, pedipalpos grandes que formam um par de tenazes para capturarem presas (Ruppert, 1984).

O veneno dos escorpiões é produzido por um par de glândulas dentro da base do aparelho inoculador. Através de uma contração violenta dos músculos ao redor das glândulas, o veneno é ejetado da luz das glândulas para o interior do duto comum e é conduzido para o meio externo por uma abertura subterminal da farpa do ferrão. A extração do veneno é feita por estimulação elétrica e a quantidade média obtida é de 0,33mg de veneno bruto para o escorpião *Tityus bahiensis* e de 0,43mg para o escorpião *Tityus serrulatus* (Lucas e Meier, 1995).

A espécie *Tityus bahiensis* possui espécimes machos e fêmeas e não se reproduz por partenogênese como o *Tityus serrulatus* (Lourenço, 2001). Os ovos se desenvolvem dentro do corpo da fêmea em um órgão chamado ovário-útero. Os filhotes nascem em um ambiente desprovido de luz e, em seguida, se fixam sobre o dorso da mãe, aonde permanecem até conseguirem se alimentar sozinhos. Alcançam a maturidade em 3 anos e vivem de 5 a 8 anos. Os escorpiões desta espécie, como a maioria das outras espécies de escorpiões, têm hábitos noturnos e se alimentam de baratas, pequenas aranhas, grilos e outros insetos. Podem viver sem comida por vários meses, mas não são tolerantes à falta de água (Bucherl, 1971).

Os homens propiciam ambientes favoráveis ao aparecimento do escorpião. O lixo e entulho gerados pela ação antrópica propiciam o aparecimento de insetos e aranhas, constituintes principais da dieta escorpiônica (Lucas e Meier, 1995). Com todos esses fatores a seu favor, nota-se grande explosão demográfica da espécie (Soares *et al.*, 2002). Com o desenvolvimento de hábitos domiciliares é cada vez mais freqüente a presença de escorpiões em áreas urbanas. Dados do Ministério da Saúde relatam 56% dos acidentes com escorpião em áreas urbanas e 34% em áreas rurais (Wen e Santalucia, 2005).

Com isso, o escorpionismo é considerado um sério problema de saúde pública no Brasil (Machado *et al.*, 2000). Os acidentes escorpiônicos são importantes em virtude da grande freqüência com que ocorrem e de sua potencial gravidade principalmente entre os mais jovens e entre os idosos (Sandoval e Dorce, 1993). Nos Estados de São Paulo e Minas Gerais, acidentes com escorpiões são freqüentes. Entre 1988 e 1989, segundo o Ministério da Saúde (Brasil, 1992), 22 mortes ocorreram nestes locais devido a acidentes com *Tityus bahiensis*, sendo a maioria dos casos com crianças com menos de 15 anos. A maioria das pessoas acidentadas apresenta somente dor local e parestesia, o envenenamento severo é cerca de 0,4% do total de

acidentes com *Tityus bahiensis* e 4,3% do total com *Tityus serrulatus* (Bucarechi *et al.*, 1995).

Dados de 2004 do Ministério da Saúde indicam ocorrência anual de mais de 28.000 casos de acidentes com escorpiões (Wen e Santalucia, 2005), correspondendo a aproximadamente 34% dos acidentes por animais peçonhentos no Brasil. Esse índice é maior do que os acidentes causados por serpentes que é de 32% e, por aranhas que é de 21%. O maior número de notificações provem das regiões Nordeste e Sudeste do país, sendo os Estados de Minas Gerais, São Paulo, Bahia, Alagoas e Pernambuco responsáveis por grande parte dos acidentes escorpiônicos (Wen e Santalucia, 2005).

Sintoma sempre presente no escorpionismo é a dor e a intensidade com que ela se manifesta depende da quantidade de veneno inoculado no tecido, e não somente da sensibilidade de cada indivíduo. A dor pode ser muito leve, quase imperceptível nos casos benignos, até muito intensa e quase insuportável nos casos mais severos. Os pacientes, principalmente as crianças, apresentam-se em geral muito agitados. É possível o aparecimento de tremores generalizados e, com agravamento do quadro, os doentes podem passar de agitação psicomotora a profundo torpor.

Podem ocorrer hipertensão seguida de hipotensão arterial e arritmias cardíacas variadas. Nos casos mais severos, insuficiência cardíaca e edema agudo de pulmão fazem parte do quadro clínico. Nas fases mais tardias e graves pode-se estabelecer bradicardia. Os sintomas respiratórios são agravados pela presença de grande quantidade de secreções como também pela presença de constrição traqueo-brônquica. Outros sintomas descritos no envenenamento escorpiônico são alteração da visão, tonturas, cefaléias, nistagmo, dificuldades de marcha, delírios e alterações no olfato (Hering *et al.* 1987; Freire-Maia e Campos, 1989; Freire-Maia, 1995; Troncon *et al.*, 2000; Teixeira *et al.*, 2001; Torres *et al.*, 2002; Alves *et al.*, 2005).

No envenenamento severo por *Tityus bahiensis*, as pessoas apresentam alterações do ritmo cardíaco e respiratório, podendo progredir para falência

cardíaca, edema pulmonar e choque, isso acompanhado de abundantes e freqüentes vômitos e diarreia, salivação excessiva, hipertensão arterial, agitação alternada com prostração e tremor (Brasil, 1993) e por vezes convulsão (Freire-Maia e Campos, 1989; Ismail *et al.*, 1990).

A intensidade dos efeitos do veneno é determinada por vários fatores, entre eles: o local da picada, através do qual o veneno penetra na corrente sanguínea, a quantidade de veneno inoculado, massa corpórea da vítima, estação do ano na qual ocorreu o acidente, tamanho do escorpião, estado de saúde da pessoa atingida e espécie do escorpião (revisado por Dorce e Sandoval, 1992). O *Tityus bahiensis*, assim como outros membros desse gênero, inoculam apenas uma pequena quantidade de veneno a cada picada e por isso a maioria dos acidentes envolvendo adultos não é letal. Os acidentes por escorpião são importantes em virtude da grande freqüência com que ocorrem e de sua potencial gravidade principalmente em crianças picadas (Goyffon *et al.*, 1982; Lourenço *et al.*, 1996; Ghalim *et al.*, 2000).

Quando ocorre o acidente, o tratamento realizado visa neutralizar o mais rápido possível à toxina circulante, combater os sintomas do envenenamento e dar suporte às condições vitais dos pacientes. Todas as vítimas de picada por escorpião, mesmo que o quadro clínico seja considerado leve, devem ficar em observação hospitalar nas primeiras 4 a 6 horas, principalmente as crianças. Nos casos moderados, é recomendável a observação por no mínimo 24 horas e, nos casos mais sérios, com instabilidade do sistema cardiorespiratório é indicado o monitoramento contínuo do paciente (Brasil, 1993; Brasil, 2001). Nos casos sintomáticos, a dor local pode ser combatida com anestésico sem vasoconstritores, como a lidocaína ou a bupivacaína, injetados no local da picada ou sob a forma de bloqueio, também pode ser utilizado analgésico por via oral ou parenteral, dependendo da intensidade da dor. O combate à dor, como medida única adotada é geralmente suficiente para todos os casos leves e, em adultos, para a maioria dos casos moderados (Cupo *et al.*, 2003).

O soro antiescorpiônico, ou antiaracnídico é indicado em todos os casos graves. Nos moderados, geralmente é utilizado apenas em crianças abaixo dos 7 anos, por constituírem o grupo de risco. Nos demais casos é indicado, antes da soroterapia, combater a dor mantendo o paciente sob observação contínua. A dose recomendada em um acidente moderado é de 4 ampolas de soro e nos acidente grave são utilizadas 8 ampolas de soro, por via intravenosa, sem diluição durante 15 a 30 minutos. A dose é a mesma para adultos e crianças (Cupo *et al.*, 2003).

Esses sintomas são devidos à ação do veneno nos centros autonômicos, onde há liberação de mediadores como adrenalina, noradrenalina e acetilcolina. Além dos efeitos periféricos, os venenos dos escorpiões têm ação sobre o sistema nervoso central. Estudos realizados no Laboratório de Farmacologia do Instituto Butantan com algumas frações isoladas do veneno do *Tityus serrulatus* mostram efeitos neurotóxicos, com atividade convulsivantes (Sandoval e Dorce, 1993; Nencioni *et al.*, 2000; Carvalho *et al.*, 1998). A TsTX, uma neurotoxina tipo alfa, purificada do veneno do *T. serrulatus*, quando injetada no hipocampo de ratos, mostrou padrões comportamentais alterados, atividade epileptiforme no hipocampo e córtex cerebral e também danos a células piramidais e granulares do giro denteado hipocampais (Carvalho *et al.*, 1998).

Estudos realizados no laboratório de Farmacologia do Instituto Butantan mostraram que o veneno do escorpião *T. bahiensis* possui um potencial convulsivante maior que o veneno do escorpião *T. serrulatus* (Lourenço *et al.*, 2002). Estudos de algumas frações purificadas do veneno do *T. bahiensis* mostraram que quando injetadas por via endovenosa tem atividade convulsivante agindo direta ou indiretamente no Sistema Nervoso Central e outras causam lesões neuronais (Lourenço *et al.*, 2002).

A peçonha dos escorpiões é direcionada primeiramente à obtenção de seus alimentos, entretanto nota-se uma grande quantidade de toxinas antimamíferos adquiridas provavelmente no processo evolutivo para sua defesa contra possíveis predadores como gambás e outros animais (Ji *et al.*, 1994).

Os venenos dos escorpiões são compostos por mucopolissacarídeos, pequenas quantidades de hialuronidase e fosfolipases, moléculas de baixo peso molecular como serotonina e histaminas e neurotoxinas (Courad; Jover, 1983). Cada veneno de escorpião pode conter várias neurotoxinas. Elas são moléculas de polipeptídios básicos com peso molecular por volta de 7000 Da, constituídas por cadeias únicas ligadas por pontes dissulfídicas (Courad e Jover, 1983).

A peçonha escorpiônica contém dois principais tipos de neurotoxinas que atuam em canais de sódio, chamadas de alfa e beta, além de toxinas que agem nos canais de potássio, cloreto e cálcio (Carbone *et al.*, 1982; Rochat *et al.*, 1984; Miller *et al.*, 1985; Kirsch *et al.*, 1989; De Bin *et al.*, 1993; Valdivia e Possani, 1998). Ao se ligar nos canais existentes nas membranas axonais, determinam uma liberação anormal de neurotransmissores e conseqüente desequilíbrio na concentração de outros íons (revisto por Dorce; Sandoval, 1992).

Os canais de sódio dependentes de voltagem são responsáveis pela despolarização rápida do potencial de ação dos nervos, músculos e células cardíacas. Sua abertura e fechamento são controlados por “ativação” e “inativação” dos processos dependentes do potencial de membrana e do tempo. Muitas neurotoxinas têm se mostrado capazes de alterar a operação normal dos canais de sódio (Courad e Jover, 1983). A ação primária das toxinas alfa é a diminuição da inativação, havendo um aumento da permeabilidade ao sódio com conseqüente aumento na duração do potencial de ação. As toxinas beta também agem nos canais de sódio, diminuindo o limiar de ativação do canal na despolarização (Kirsch, 1989). Canais de potássio são encontrados em todas as células e estes são responsáveis por diversas funções biológicas (Sorensen *et al.*, 1990). No sistema nervoso atuam na regulação fisiológica do potencial de membrana. Quando há um bloqueio desses canais por drogas ou neurotoxinas, há um maior acúmulo de íons na célula, ocorrendo despolarização prolongada,

permitindo um tempo maior de abertura dos canais de cálcio causando grande liberação de neurotransmissores (Machado, 2000).

Dos escorpiões do gênero *Tityus* somente o veneno do *T. serrulatus* foi extensamente estudado. Por comparação, faz-se uma analogia entre o veneno do *T. serrulatus* com os dos outros escorpiões do gênero, que provavelmente possuem substâncias tóxicas semelhantes no seu veneno. Estudos indicam que existem semelhanças bioquímicas entre os venenos das diferentes espécies do gênero *Tityus* (Tequattrini *et al.*, 1995). Acredita-se que exista uma diferença de toxicidade entre o veneno do *T. serrulatus* e do *T. bahiensis* (Nishikawa *et al.*, 1994). Burcherl (1955) determinou a DL<sub>50</sub> (i.v. em camundongos) de 0,75µg/g para o veneno do *T. serrulatus* e 4,25µg/g para o veneno do *T. bahiensis*. Dados obtidos em nosso laboratório indicam DL<sub>50</sub> do veneno do *Tityus bahiensis* por via endovenosa para camundongos de 1,18mg/Kg (Loureço, 2002), sendo aproximadamente duas vezes mais alta do que a DL<sub>50</sub> endovenosa em ratos para o veneno de *Tityus serrulatus*, também obtida em nosso laboratório que foi de 0,56mg/Kg (Sandoval e Dorce, 1993). Contudo, Nishikawa *et al.* (1994) determinaram uma DL<sub>50</sub> intraperitoneal em camundongos de 1,06mg/Kg para o veneno do *Tityus bahiensis* e 1,16mg/Kg para o veneno do *Tityus serrulatus*.

A purificação e sequenciamento das toxinas do veneno do *Tityus bahiensis* mostraram toxinas muito semelhantes às toxinas já bem caracterizadas do veneno do *Tityus serrulatus* (Becerril *et al.*, 1996). Dez por cento da parte solúvel do veneno do *Tityus bahiensis* é composta pela toxina  $\gamma$  bahiensis ( $\gamma$ -b) que tem 95% de homologia com a toxina  $\gamma$  do *Tityus serrulatus* (Becerril *et al.*, 1997). Além da  $\gamma$ -bahiensis, outras três toxinas chamadas III – 8 bahiensis (III-8b), IV - 5 bahiensis (IV-5b) e TbTx – VI foram isoladas. A toxina IV-5b tem 80% de homologia com a toxina IV-5 do *Tityus serrulatus* (Tequattrini, *et al.*, 1995; Becerril *et al.*, 1996).

A pesquisa do veneno do *T. bahiensis* começou a se intensificar com o estudo do uso de antiveneno contra o veneno do *Tityus serrulatus* em acidentes

com esses artrópodes no qual Nishikawa *et al.* (1994) concluíram que o soro feito somente a partir do veneno do *T serrulatus* é mais eficaz em neutralizar os efeitos do veneno do *T. bahiensis* do que quando os dois venenos são usados juntos.

Apesar dos efeitos causados pelo veneno, não há dados na literatura sobre o efeito do veneno na prole de mães que entram em contato com este nos períodos pré-natal ou pós-natal. Recentemente em nosso laboratório têm sido estudado esses efeitos em relação ao veneno do escorpião *Tityus serrulatus* (Barão, 2006; Cruttenden, *et al*, 2007).

Ao tratar da prole de mães injetadas com este veneno, deve se pensar na toxicidade do desenvolvimento pré e pós-natal e também em todas as possíveis ações periféricas e centrais e suas conseqüências para o feto e para o filhote.

Para um bom desenvolvimento normal do feto após a fecundação, é preciso que haja duas condições: herança genética e meio ambiente intra-uterino adequado. Nos mamíferos o desenvolvimento ocorre em quatro fases: implantação, organogênese, desenvolvimento fetal e neonatal (Manson e Kang, 1989).

A fase de implantação começa na fecundação do óvulo e vai até o implante do blastocisto no útero materno, nesta fase um agente tóxico pode provocar embriofetalidade, sendo bastante rara a ocorrência de teratogênese. A organogênese começa com a proliferação celular indo até a formação de órgãos rudimentares. Nesta fase, agentes podem levar a teratogênese ou a embriofetalidade; nela ocorre também a maioria das anomalias esqueléticas e viscerais. Substâncias administradas durante este período podem levar a teratogênese quando a lesão causada permitir a existência do indivíduo afetado, ou a embriofetalidade, caso a lesão não seja compatível com a possibilidade de vida do mesmo. Cada órgão em formação apresenta um período no qual ele é mais susceptível aos agentes tóxicos, chamado período crítico. No desenvolvimento fetal e neonatal os órgãos começam a apresentar

crescimento tecidual e maturação. As anomalias neste período são mais sutis do que as que ocorrem no período de organogênese (Manson e Kang, 1989).

Estas anomalias sutis, às vezes, não são detectadas no desenvolvimento do animal por observação macro ou microscópica, neste caso, é preciso fazer estudos comportamentais, bioquímicos e de biologia molecular, além de outros recursos e metodologias disponíveis após o nascimento (Nasello, 1997).

Em ratos, o implante do blastocisto no útero acontece até o quinto dia da gestação, a fase de organogênese vai do sexto até o décimo sexto dia, e deste dia em diante, até o vigésimo primeiro dia acontece o desenvolvimento fetal (Manson e Kang, 1989).

No período pós-natal substâncias com características físico-químicas adequadas, serão passadas à prole pelo aleitamento materno. Os filhotes têm baixa capacidade excretora e metabolismo enzimático limitado, com isso, o aleitamento pode ser responsável pela sua intoxicação (Castro, 1991). Algumas substâncias causam efeitos adversos discretos, como atraso no crescimento e desenvolvimento. Este fato é chamado de toxicidade do desenvolvimento, compreendendo quatro manifestações: alterações do crescimento, morte, malformações e déficits ou prejuízos funcionais (Bernadi, 1999). Alguns agentes são definidos como teratógenos comportamentais, porque desagregam o desenvolvimento comportamental tanto por exposição pré-natal durante a organogênese como também durante a fase de desenvolvimento fetal.

Diversos estudos toxicológicos vêm demonstrando a utilidade de testes usados em psicofarmacologia para avaliar a função do sistema nervoso central após a exposição a um agente tóxico (Norton, 1989). Procedimentos comportamentais são utilizados como ferramentas para avaliar a ação de drogas e podem ainda, serem comparados a outros procedimentos não comportamentais para atender o mesmo objetivo (Porsolt *et al.*, 1993). Os testes comportamentais podem detectar alterações no sistema nervoso central (SNC) causadas por substâncias tóxicas ou patologias. Dependendo da circuitaria cerebral atingida serão observadas modificações comportamentais

em testes que requerem a funcionalidade do sistema nervoso. Para a avaliação prática em experimentos comportamentais, costuma-se dividir os comportamentos em três tipos: dois ditos condicionados (aprendidos), nos quais os comportamentos são rigidamente controlados, e um chamado incondicionado (não aprendido) ou espontâneo, no qual o ambiente é controlado, porém os comportamentos são espontâneos (Norton, 1989). Os dois tipos básicos de condicionamento são: o operante ou emitido e o respondente ou eliciado, também chamado de pavloviano.

No comportamento espontâneo ou incondicionado o pesquisador mede a resposta motora espontânea do animal frente a um estímulo, que pode ser um ambiente novo ou uma mudança no ambiente (Norton, 1989). Dessa forma, nenhum tipo de treinamento é necessário, porém se houver exposição repetida ou prolongada ao teste, pode ocorrer habituação ou adaptação no desempenho o que pode ser avaliado como uma forma de aprendizado (Norton, 1989). Alguns comportamentos, ainda, podem ser eliciados por drogas que atuam no sistema nervoso central e dessa maneira dar subsídios para o entendimento do funcionamento dos sistemas onde eles interagem.

Os ratos, ao nascer, têm um sistema nervoso central imaturo, com deficiente irrigação cerebral e ausência de barreira hematoencefálica (Bernardi, 1999). Seu desenvolvimento acontece no decorrer do período pós-natal. Qualquer influência que o feto possa sofrer durante a gestação, desde a organogênese até a amamentação pode agir sobre esse processo, podendo causar desde anomalias sutis até teratogênese. O desenvolvimento pós-natal da atividade motora do rato compreende alguns processos comportamentais como o desenvolvimento da postura e locomoção quadrúpede, ajustes dinâmicos posturais, algumas respostas de orientação e de habilidade motoras complexas. Por testes comportamentais é possível avaliar tais parâmetros nos animais.

As lesões que ocorrem no cérebro adulto resultam imediatamente em alterações comportamentais, enquanto lesões ou alterações do

desenvolvimento do cérebro de neonatos podem ser, ou não compensadas no desenrolar da vida do indivíduo levando ou não a alterações comportamentais. Por outro lado, pequenas alterações na funcionalidade do cérebro que poderiam passar despercebidas quando acontecem em adultos, no cérebro jovem podem ser exacerbadas com o decorrer do tempo (Schmadel *et al.*, 2004). Ainda, se acredita que grande parte das desordens neuropsiquiátricas tem origem em anormalidades do desenvolvimento do SNC (Duncan *et al.*, 1999). Assim, ratos adultos que tenham sofrido algum tipo de distúrbio neonatal podem ser úteis no desenvolvimento de modelos animais dessas desordens.

Para um bom desenvolvimento de um ser vivo é fundamental ter uma complexa coordenação de divisões, migrações e interações celulares, regulação gênica e diferenciação. Qualquer substância que possa interferir nestes processos pode causar malformações no embrião. Com isso, a preocupação e investigação com agentes exógenos capazes de causar mortes ou anomalias comportamentais e estruturais no neonato, têm aumentando.

São raras na literatura citações sobre os efeitos deletérios para a prole quando a mãe é exposta a peçonhas no período perinatal principalmente ao que se refere às peçonhas de escorpião. Na Arábia Saudita, foram realizados estudos com escorpiões da espécie *Androctonus amoreuxi*, constatando que seu veneno tem capacidade de causar anomalias congênitas e reabsorção fetal quando inoculado em ratas prenhes (Ismail, 1983).

No Brasil, em relação às ações do veneno dos escorpiões nativos, foram realizados apenas dois estudos (Barão, 2006; Cruttenden, *et al.*, 2007) visando verificar o seu efeito em anomalias congênitas, embriofetividade ou em alteração no desenvolvimento da prole. Contudo, este é um campo novo para pesquisas, visto a alta incidência de acidentes com mulheres e crianças.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. *Objetivos gerais*

Estudar os efeitos neurocomportamentais na prole de ratos no período pós-natal e na idade adulta, a partir da administração materna do veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis* no 10º dia de gestação ou no 16º dia de gestação.

### 2. 2. *Objetivos específicos*

2.2.1. Estudar os efeitos neurocomportamentais do veneno do escorpião *Tityus bahiensis* na prole de ratos quando administrado no décimo dia de gestação. Este dia corresponde ao meio do período de organogênese. Nos ratos o décimo primeiro dia de gestação abrange a maioria dos períodos críticos dos principais órgãos.

2.2.2. Estudar os efeitos neurocomportamentais do veneno do escorpião *Tityus bahiensis* na prole de ratos, quando administrado no décimo sexto dia de gestação. Este dia corresponde ao início do período de desenvolvimento fetal, durante o qual, além de alguns sistemas ainda não estarem completamente formados, ocorre a maturação e diferenciação do cérebro podendo causar anomalias físicas, falhas no desenvolvimento posterior e desvios comportamentais.

2.2.3. Estudar os efeitos do veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis* sobre a integridade celular neuronal da prole de ratos após administração materna no 10º e no 16º dia de gestação.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Sujeitos experimentais

Filhotes na idade pós-natal e na idade adulta foram obtidos do cruzamento de ratos Wistar machos e fêmeas, sexualmente maduros, pesando entre 250 e 300g. Os animais foram acondicionados a  $22 \pm 2$  graus Celsius, no Biotério do Laboratório de Farmacologia do Instituto Butantan. Água e comida foram fornecidas “ad libitum” durante todo procedimento experimental.

Para os experimentos com os filhotes no período pós-natal, as fêmeas prenhes foram separadas em 3 grupos, sendo um controle e dois experimentais. Cada grupo continha 8 fêmeas prenhes que foram injetadas no 10º e 16º dia de gestação com solução salina ou veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis* de tal maneira que os animais do grupo controle receberam salina nos dois dias de injeção, os animais de um grupo experimental receberam salina no 10º dia de gestação e veneno no 16º dia e do outro grupo, veneno no 10º dia e salina no 16º dia gestacional. Os cruzamentos e a separação nos diversos grupos foram feitos tantas vezes quantas foram necessárias para a realização de todos os experimentos.

Para os experimentos com os filhotes na idade adulta mais 3 grupos de fêmeas, sendo um controle e dois experimentais foram utilizados, cada grupo contendo 8 fêmeas prenhes, e foram seguidos os mesmos procedimentos apresentados acima.

Para os experimentos de avaliação de integridade neuronal foram utilizados mais 3 grupos de fêmeas, sendo um controle e dois experimentais, cada um contendo 5 fêmeas prenhes, e foram seguidos os mesmos procedimentos apresentados acima.

O número de animais e as injeções foram assim definidos para que fosse evitado o desperdício de animais e de veneno. A dose de 2,5mg/Kg do veneno de *T.bahiensis* foi determinada em experimentos prévios em nosso laboratório e

correspondem àquela que causa alguns efeitos sistêmicos após a injeção, sem levar à morte das mães. Os dias de injeção foram os mesmos que em estudos anteriores, também de nosso laboratório, procuravam verificar alterações morfológicas nos filhotes.

### **3.2. Drogas e Soluções**

Foi utilizado veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis* (diluído em solução de NaCl 1,46%) e solução de NaCl 1,46%, administrados por via subcutânea às ratas prenhes. Em estudos anteriores em nosso laboratório foi determinado que a solubilidade total do veneno do *Tityus bahiensis* se dá somente em solução de NaCl 1,46%.

### **3.3. Procedimentos**

#### **3.3.1. Cruzamento de animais e diagnóstico de prenhez**

As ratas foram agrupadas em gaiolas de polietileno com tampa metálica contendo duas fêmeas cada. Um macho foi colocado no final do dia aproximadamente às 16 horas e retirado pela manhã do dia seguinte, quando se verificou a presença de espermatozóides através do lavado vaginal.

O lavado vaginal consiste em injeção de 60 microlitros de solução salina, com ajuda de uma pipeta, no canal vaginal da rata e retirada com esta mesma pipeta. Este líquido é colocado na lâmina e observado ao microscópio onde se verifica a presença de espermatozóides para confirmação do diagnóstico de prenhez (dia zero de gestação). Após esta confirmação as fêmeas foram separadas individualmente. Os machos e as fêmeas não prenhes não foram utilizados.

### ***3.3.2. Avaliação indireta da toxicidade materna através da evolução ponderal***

As fêmeas prenhes foram pesadas nos dias 0, 5, 10, 16 e 21 da gestação, para controle do ganho de peso.

### ***3.3.3. Padronização das ninhadas e avaliação da evolução de seus pesos***

As ninhadas foram padronizadas no dia 2 do nascimento. Sempre que possível foram utilizados 8 filhotes distribuídos na mesma proporção para machos e fêmeas. Caso não fosse possível manter essa mesma proporção os filhotes foram escolhidos independentemente do sexo até que se completassem 8 filhotes. Se a ninhada apresentasse número menor ou igual a 8 filhotes, todos seriam utilizados.

Para manuseio dos filhotes alguns cuidados foram tomados. As mãos do pesquisador foram lavadas em água corrente e esfregadas na ração e na maravalha, a fim de evitar qualquer odor diferente que estressasse o animal.

A pesagem dos filhotes utilizados para os experimentos no período pós-natal aconteceu a cada seis dias, iniciando-se no segundo dia de vida, até o vigésimo dia de vida.

A pesagem dos filhotes utilizados para os experimentos na idade adulta aconteceu semanalmente até que estes atingissem 3 meses de idade.

### ***3.3.4. Desenvolvimento Físico***

Cada filhote foi observado diariamente e individualmente no mesmo horário até a ocorrência dos parâmetros físicos: desdobramento de orelhas,

erupção do dentes incisivos, abertura dos olhos, abertura do orifício do ouvido, descida dos testículos e abertura do canal vaginal.

### **3.3.5. Desenvolvimento Reflexológico**

Os dias dos testes descritos a seguir foram pré-determinados em outros experimentos.

**a) *Preensão palmar:*** O animal foi contido por uma das mãos do pesquisador, com o cuidado de não tocar sua pata esquerda dianteira. Com a ponta de um lápis esta pata foi tocada. O critério para se considerar a ocorrência do reflexo, que foi cronometrado, foi o fechamento da pata no contato físico com o lápis. O teste foi realizado nos dias 4, 6 e 8.

**b) *Reflexo postural:*** O animal foi colocado em posição de decúbito dorsal e foi cronometrado o tempo que o mesmo levou para virar o corpo e ficar na posição de decúbito ventral com as quatro patas na superfície. O teste foi realizado nos dias 4, 6,8 e 10 de vida.

**c) *Geotaxia negativa:*** O animal foi colocado em uma rampa de aproximadamente 45 graus de inclinação a 5 cm da borda inferior desta superfície, com a cabeça direcionada para baixo. O resultado esperado para este teste foi que o animal se voltasse para a posição oposta, ou seja, com a cabeça voltada para cima. O tempo necessário para a ocorrência do reflexo foi cronometrado. O teste foi realizado nos dias 6, 8,10 e 12 de vida.

### **3.3.6. Desenvolvimento Comportamental.**

**a) *Caixa de atividade***

Este aparelho contém dois grupos de sensores móveis, um na posição horizontal, que mede a atividade locomotora e outro na posição vertical, que mede a atividade de levantar do animal. Os filhotes foram colocados nesta caixa individualmente e observados durante cinco minutos. Após a retirada de cada animal, a caixa foi limpa com solução álcool-água a 5% para evitar interferências com odor do animal anterior. O teste foi realizado tanto para filhotes na fase neonatal como na idade adulta, mas para diferentes grupos. O teste foi realizado no 10º, 14º, 18º e 22º dias pós-natal e aos 2 meses de idade. Os sensores são móveis e foram ajustados na altura apropriada para as duas fases.

#### ***b) Natação Forçada***

Para o teste de natação forçada ou modelo de Porsolt (1993) utilizou-se um recipiente de vidro medindo 22 cm de diâmetro por 40 cm de altura com 19 cm de água, na temperatura média de 25° C. Animais com 60 dias de idade foram colocados no interior deste recipiente por 10 minutos (sessão de treinamento). Após esta sessão, os animais foram retirados, secos e aquecidos. Após 24 horas, foram recolocados neste recipiente por 5 minutos (sessão teste) onde foi avaliada a latência para o animal parar de nadar bem como o tempo total de imobilidade do mesmo, ambos em segundos. Tanto na sessão teste como na sessão treinamento, o pesquisador acompanhou o animal para evitar que o mesmo se afogasse.

#### ***c) Ambiente enriquecido***

A caixa de atividade motora foi enriquecida com objetos previamente determinados como sendo capazes de induzir o comportamento exploratório no rato. Os ratos foram colocados individualmente no canto da caixa de teste, voltados para a parede por 5 minutos de teste. O total de atividade motora (ambulação + atividade geral e movimentos verticais) foi automaticamente marcado. O tempo total gasto na atividade de exploração do novo objeto (contato; erguer-se; subir na prateleira; declinar-se com a cabeça para baixo; morder e rastejar-se entre as prateleiras) foi marcado por observação direta de uma maneira encoberta. Este teste foi usado para analisar a motivação e processar informações que dizem respeito à importância de novos estímulos.

#### ***d) Interação social***

A interação social foi avaliada através da observação direta de duplas de animais, compostas de animais de mesmo sexo, peso e grupo, em um caixa de madeira revestida com plástico medindo 72x45x55 centímetros. Estes animais foram avaliados quanto ao tempo total de interação social durante um período de 5 minutos. Como parâmetros para avaliação de interação social foram considerados: cheirar, seguir, montar, lutar, lambar, morder e/ou empurrar o parceiro. O comportamento agressivo e o contato passivo não foram considerados interação social. Todos os animais foram submetidos sozinhos a uma sessão de reconhecimento da caixa de madeira, por 5 minutos, 24 horas antes de serem colocados na situação experimental. As observações foram sempre no mesmo período do dia (entre 14:00 e 17:00). A arena foi limpa com uma solução de álcool 5%, antes da introdução de cada par.

#### ***e) Esquiva discriminativa no labirinto em cruz elevado***

Foi utilizado um labirinto em cruz elevado modificado, feito de madeira, contendo dois braços fechados (50 x 15 x 40 cm) opostos a dois braços abertos (50 x 15 x 40 cm). Um dos braços fechados foi denominado como não-aversivo. O outro braço fechado foi denominado aversivo, neste foi colocado exatamente sobre o meio do braço uma lâmpada de 100 watts e um secador de cabelo de 700 watts, para produzir o estímulo aversivo. O chão do braço aversivo e do não-aversivo foram revestido por um tapete preto de borracha.

Na sessão treino ou sessão de aquisição, da esQUIVA discriminativa cada animal foi colocado, individualmente, por 10 minutos, no centro do labirinto em cruz elevado modificado. Toda vez que o animal entrou no braço fechado aversivo, a situação aversiva foi produzida até o animal deixar este braço. Este estímulo aversivo foi produzido pela lâmpada acesa, pelo fluxo de ar quente e do pelo barulho produzido pelo secador. Os animais dos grupos controle e experimentais foram observados durante a fase clara do ciclo de luz, entre 13:00 e 17:00 horas. Entre as observações de cada rato, o labirinto foi limpo com uma solução de água-álcool de 5%.

Na sessão de teste ou sessão de retenção, realizada 24 horas após o condicionamento (sessão treino) o animal foi novamente colocado no centro do aparelho, mas sem receber qualquer estimulação aversiva, porém com a lâmpada e o secador, ambos desligados, ainda presente em um dos braços fechados. Nesta sessão foram utilizados os mesmos procedimentos quanto ao período de observação e limpeza.

Ao redor do aparelho de esQUIVA discriminativa existiam várias pistas visuais, tais como portas, janelas, bancadas e observador, que os animais puderam utilizar para a localização dos diferentes braços do labirinto. Tanto na sessão de treino como na sessão de teste foi quantificado o número de entradas, o tempo de permanência e o número de *neck's in* no braço fechado aversivo, no braço não aversivo e nos braços abertos. O *neck in* é considerado quando o animal coloca apenas a cabeça dentro de um dos braços e a retira, sem chegar a entrar com o corpo dentro do braço.

O aprendizado e a memória foram avaliados por meio da comparação do tempo de permanência nos braços fechados aversivos e não-aversivos. Ao mesmo tempo em que o aprendizado e memória são avaliados, o modelo de esQUIVA discriminativa em labirinto em cruz elevado permite a avaliação de outros parâmetros do comportamento animal: os níveis de ansiedade (avaliados por meio da quantificação da porcentagem de tempo de permanência nos braços abertos do aparelho) e a atividade motora (avaliada por meio de número total de entradas nos braços do aparelho).

### ***3.3.7. Avaliação da Integridade Neuronal***

No período pós-natal os grupos de animais destinados à avaliação de integridade neuronal foram sacrificados no segundo ou no sétimo dia de vida para análise histopatológica. Os animais foram anestesiados por inalação de gás carbônico e decapitados para a retirada do cérebro. Estes foram colocados em solução de formal a 10%, por no mínimo uma semana. Posteriormente foram dissecados, emblocados em paraplast e levados ao micrótopo para serem cortados e depois corados com violeta de cresil. As lâminas foram levadas ao microscópio para contagem dos corpos celulares íntegros nas áreas hipocâmpais CA1, CA3 e CA4. Foram considerados neurônios íntegros aqueles em que era possível a visualização de núcleo e nucléolo centralizado.

Após os experimentos comportamentais na idade adulta os animais foram anestesiados por inalação de gás carbônico e perfundidos por punção cardíaca com solução tampão fosfato seguida de solução de formol a 10%. Os cérebros foram retirados e colocados em solução de formol a 10%, posteriormente foram dissecados, emblocados em paraplast e levados ao micrótopo onde foram cortados e depois corados com violeta de cresil. As lâminas foram levadas ao microscópio para contagem dos corpos celulares

íntegros nas áreas hipocâmpais CA1, CA3 e CA4. Foram considerados neurônios íntegros aqueles em que era possível a visualização de núcleo e nucléolo centralizado.

### **3.4. Delineamento experimental**

#### **3.4.1. Experimento 1 - Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião Tityus bahiensis sobre a avaliação indireta da toxicidade materna de ratas tratadas no 10º ou no 16º dia de prenhez.**

Após a confirmação de prenhez conforme procedimento descrito no item 3.3.1, as fêmeas foram distribuídas conforme descritos no item 3.1.

Um grupo experimental de animais recebeu injeção subcutânea de 2,5 mg/Kg de veneno bruto no 10º dia de gestação e de 1 ml/Kg de solução salina no 16º dia de gestação. Outro grupo experimental recebeu injeção subcutânea de 1 ml/Kg de solução salina no 10º dia de gestação e de 2,5 mg/Kg de veneno bruto no 16º dia de gestação. Os animais do grupo controle receberam 1 ml/Kg de massa corpórea de solução salina a 1,46% no 10º e 16º dia de gestação.

Foi realizada análise da toxicidade materna conforme descrito no item 3.3.2.

#### **3.4.2. Experimento 2 - Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião Tityus bahiensis sobre parâmetros do desenvolvimento físico no período pós-natal da prole de ratas tratadas no 10º ou no 16º dia de prenhez.**

As mães foram mantidas individualmente em suas caixas até o nascimento dos filhotes quando foi feita a padronização como descrito no item

3.3.3. Análise completa dos parâmetros físicos dos filhotes foi feita como descrita no item 3.3.4.

**3.4.3. Experimento 3** - *Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião Tityus bahiensis sobre parâmetros do desenvolvimento reflexológico no período pós-natal da prole de ratas tratadas no 10º ou no 16º dia de prenhez.*

As mães foram mantidas individualmente em suas caixas até o nascimento dos filhotes quando foi feita a padronização como descrito no item 3.3.3. A análise completa dos parâmetros reflexológicos dos filhotes foi feita como descrita no item 3.3.5.

**3.4.4. Experimento 4** – *Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião Tityus bahiensis sobre a atividade geral e locomoção na prole no período pós-natal e na vida adulta, quando administrado no 10º ou no 16º dia de prenhez.*

Os mesmos animais utilizados nos experimentos descritos no item 3.3.5 foram submetidos à caixa de atividade no período pós-natal conforme descrito no item 3.3.6a.

Outros animais, quatorze machos e quatorze fêmeas foram desmamados no 21º dia de vida e acondicionado em gaiolas separados por sexo. Na idade adulta, foram submetidos à caixa de atividade conforme descrito no item 3.3.6a.

Os dados de fêmeas e machos foram computados separadamente.

**3.4.5. Experimento 5** – *Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião Tityus bahiensis sobre a natação forçada na idade adulta, quando administrado no 10º ou no 16º dia de prenhez.*

Os mesmos animais do experimento anterior, na idade adulta, foram submetidos à natação forçada conforme descrito no item 3.3.6b.

Os dados de fêmeas e machos foram computados separadamente.

Após a observação os animais foram anestesiados, perfundidos e seus cérebros retirados para análise histopatológica, como descrito no item 3.3.7.

**3.4.6. Experimento 6 – Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião Tityus bahiensis sobre o ambiente enriquecido na idade adulta, quando administrado no 10º ou no 16º dia de prenhez.**

Quatorze machos e quatorze fêmeas foram desmamados no 21º dia de vida e acondicionado em gaiolas separados por sexo. Na idade adulta, foram submetidos ao ambiente enriquecido conforme descrito no item 3.3.6c.

Os dados de fêmeas e machos foram computados separadamente.

**3.4.7. Experimento 7 – Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião Tityus bahiensis sobre a interação social na idade adulta, quando administrado no 10º ou no 16º dia de prenhez.**

Os mesmos animais do experimento anterior, na idade adulta, foram submetidos à interação social conforme descrito no item 3.3.6d.

Os dados de fêmeas e machos foram computados separadamente.

Após a observação os animais foram anestesiados, perfundidos e seus cérebros retirados para análise histopatológica, como descrito no item 3.3.7.

**3.4.8. Experimento 8 – Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião Tityus bahiensis sobre a esQUIVA discriminativa em labirinto em cruz elevado na idade adulta, quando administrado no 10º ou no 16º dia de prenhez.**

Quatorze machos e quatorze fêmeas foram desmamados no 21º dia de vida e acondicionado em gaiolas separados por sexo. Na idade adulta foram

submetidos à esQUIVA discriminativa em labirinto em cruz elevado conforme descrito no item 3.3.6e.

Os dados de fêmeas e machos foram computados separadamente.

Após a observação os animais foram anestesiados, perfundidos e seus cérebros retirados para análise histopatológica, como descrito no item 3.3.7.

#### **3.4.9 – Experimento 9 - Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis* sobre a integridade neuronal de filhotes de ratas tratadas no 10º ou no 16º dia de prenhez.**

Cinco filhotes um de cada ninhada destinada à análise da integridade neuronal, foram escolhidos aleatoriamente e destinados à análise histopatológica no 2º dia de vida como descrito no item 3.3.7. Outros cinco filhotes um de cada ninhada foram escolhidos aleatoriamente e destinados a análise histopatológica no 7º dia de vida como descrito no item 3.3.7.

Cinco filhotes na idade adulta um de cada ninhada foram escolhidos aleatoriamente, após a observação do desenvolvimento comportamental e destinados à análise histopatológica, como descrito no item 3.3.7.

### **3.5. Análise estatística**

Os dados foram analisados utilizando-se primeiramente o teste de Bartlett para determinação da distribuição paramétrica ou não paramétrica. Por esta análise todos os dados foram considerados com distribuição paramétrica. Foi, então, utilizado o teste ANOVA seguido do teste de Tukey Kramer. O intervalo de confiança aceitável foi de 5% ( $p < 0,05$ ).

As análises foram feitas no computador utilizando-se o programa GraphPad InStat (San Diego, S.A.)

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Experimento 1 - Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis* sobre a avaliação indireta da intoxicação materna de ratas tratadas no 10° ou no 16° dia de prenhez.

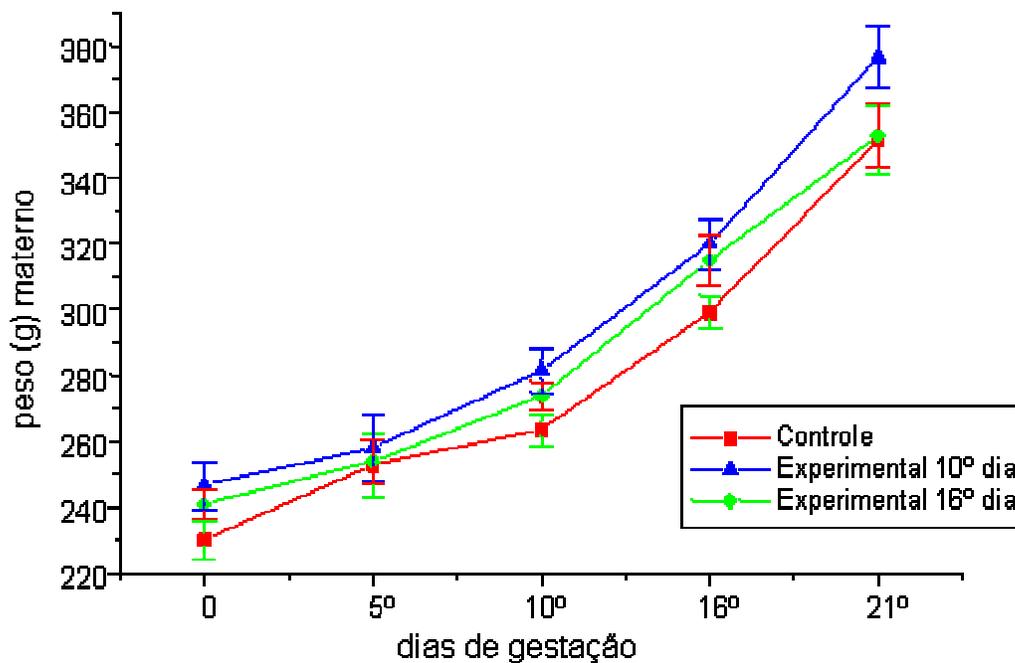
O peso materno no período gestacional de mães tratadas no 10° dia de prenhez, não sofreu alteração significativa em relação ao controle para todos os períodos analisados, como verificado na tabela 1.

O mesmo ocorreu com as mães tratadas no 16° dia gestacional, em que a alteração do peso materno não foi significativa em nenhum dos períodos analisados, (tabela 1, figura 1).

**Tabela 1** - Peso (em gramas) das mães tratadas no 10° ou 16° dia gestacional com o veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Peso Materno	Controle	n	Veneno 10° dia	n	Veneno 16° dia	n
0° dia de gestação	230,0 ± 5,8	16	246,7 ± 7,3	16	240,9 ± 4,5	16
5° dia de gestação	252,8 ± 9,7	16	258,0 ± 10,5	16	253,8 ± 6,6	16
10° dia de gestação	263,6 ± 4,9	16	281,4 ± 6,8	16	273,7 ± 4,5	16
16° dia de gestação	299,2 ± 4,9	16	319,8 ± 7,7	16	314,9 ± 7,4	16
21° dia de gestação	351,4 ± 10,2	16	376,4 ± 9,4	16	352,6 ± 9,8	16

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média  
 Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer



**Figura 1:** Gráfico da evolução ponderal do peso materno, em gramas, de mães tratadas com o veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis* no 10º ou no 16º dia gestacional.

Os dados se referem à média  $\pm$  erro padrão da média.

**4.2. Experimento 2 - Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião Tityus bahiensis sobre parâmetros do desenvolvimento físico da prole de ratas tratadas no 10<sup>o</sup> ou no 16<sup>o</sup> dia de prenhez.**

No desenvolvimento físico dos filhotes de mães tratadas no 10<sup>o</sup> dia gestacional, comparados aos do grupo controle, observou-se que o desdobramento das orelhas, erupção dos dentes incisivos e abertura vaginal foram adiantados (tabela 2, figura 2). A abertura do orifício do ouvido, a abertura dos olhos e a descida dos testículos não sofreram alterações (tabela 2, figura 2). Houve um aumento de peso de filhotes machos (tabela 3, figura 3) e fêmeas (tabela 3, figura 3) nos 14<sup>o</sup> e 20<sup>o</sup> dias de vida.

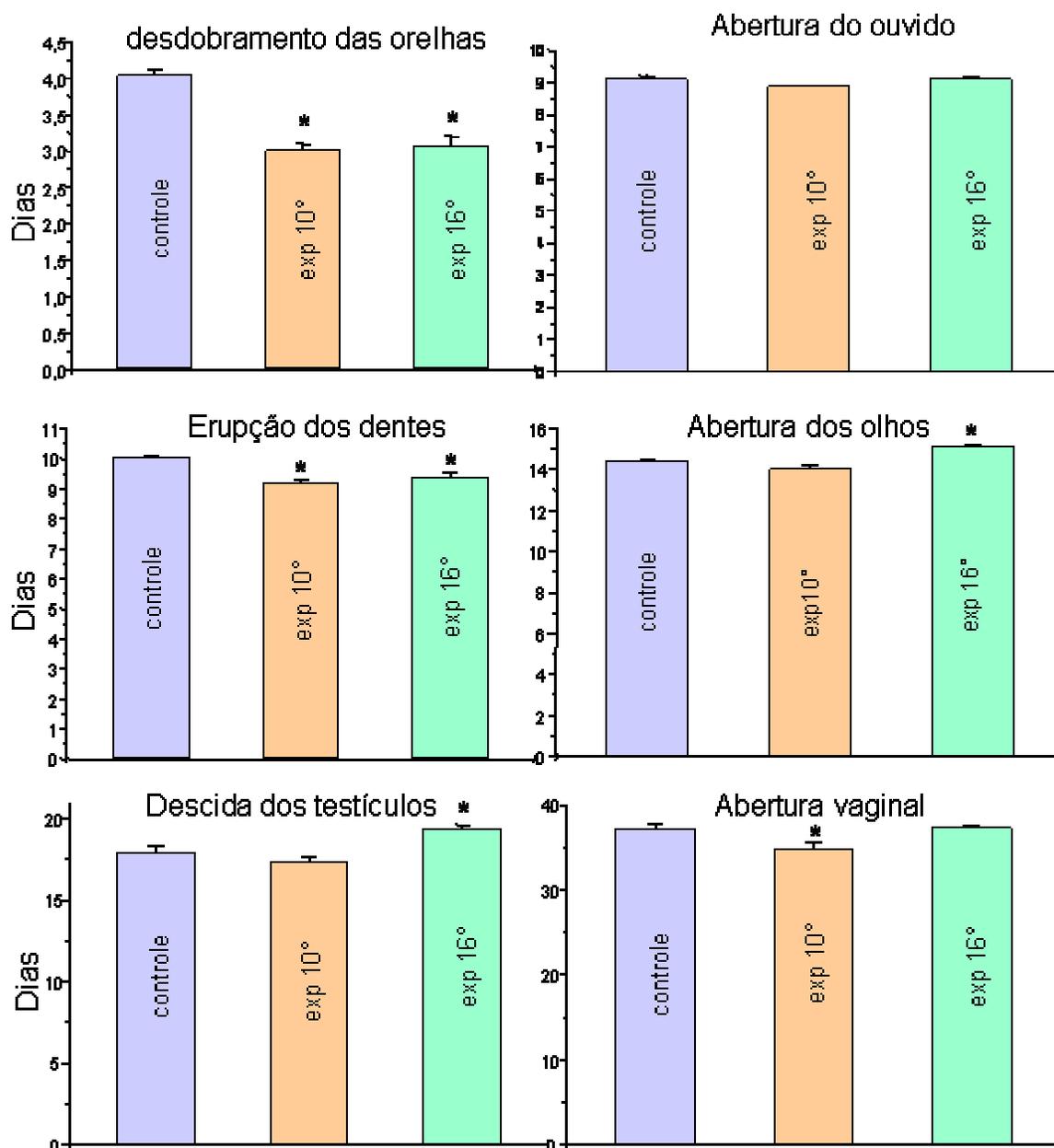
Quanto ao desenvolvimento físico da prole de mães tratadas no 16<sup>o</sup> dia gestacional, verificou-se que o desdobramento de orelha e erupção dos dentes foram adiantados. A abertura dos olhos e a descida dos testículos atrasaram (tabela 2, figura 2). A abertura do orifício do ouvido e a abertura vaginal não sofreram alterações significantes (tabela 2, figura 2). Contudo, observou-se que houve diminuição do peso das fêmeas filhotes no 2<sup>o</sup> dia de vida e aumento no 20<sup>o</sup> dia de vida (tabela 3, figura 3). Não foram observadas alterações do peso de filhotes machos (tabela 3, figura 3).

**Tabela 2** - Observação dos dias de ocorrência dos parâmetros físicos da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia gestacional com o veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

<b>Parâmetros Físicos</b>	<b>Controle</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 10º dia</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 16º dia</b>	<b>n</b>
Desdobramento de orelhas	4,04 ± 0,08	64	3,01 ± 0,09*	63	3,07 ± 0,13*	62
Abertura do orifício do ouvido	9,12 ± 0,09	64	8,87 ± 0,04	63	9,12 ± 0,08	62
Erupção dos dentes incisivos	10,06 ± 0,06	64	9,19 ± 0,13*	63	9,38 ± 0,14*	62
Abertura dos olhos	14,40 ± 0,08	64	14,00 ± 0,21	63	15,09 ± 0,12*	62
Descida dos testículos	17,90 ± 0,43	30	17,34 ± 0,29	28	19,40 ± 0,22*	30
Abertura do canal vaginal	37,21 ± 0,51	28	34,87 ± 0,72*	24	37,25 ± 0,34	24

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média

\* Significativamente diferente do controle (p < 0,05) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer



**Figura 2:** Observação dos dias de ocorrência dos parâmetros físicos da prole de mães tratadas no 10<sup>o</sup> ou 16<sup>o</sup> dia gestacional com o veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Os dados se referem à média  $\pm$  erro padrão da média.

\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer.

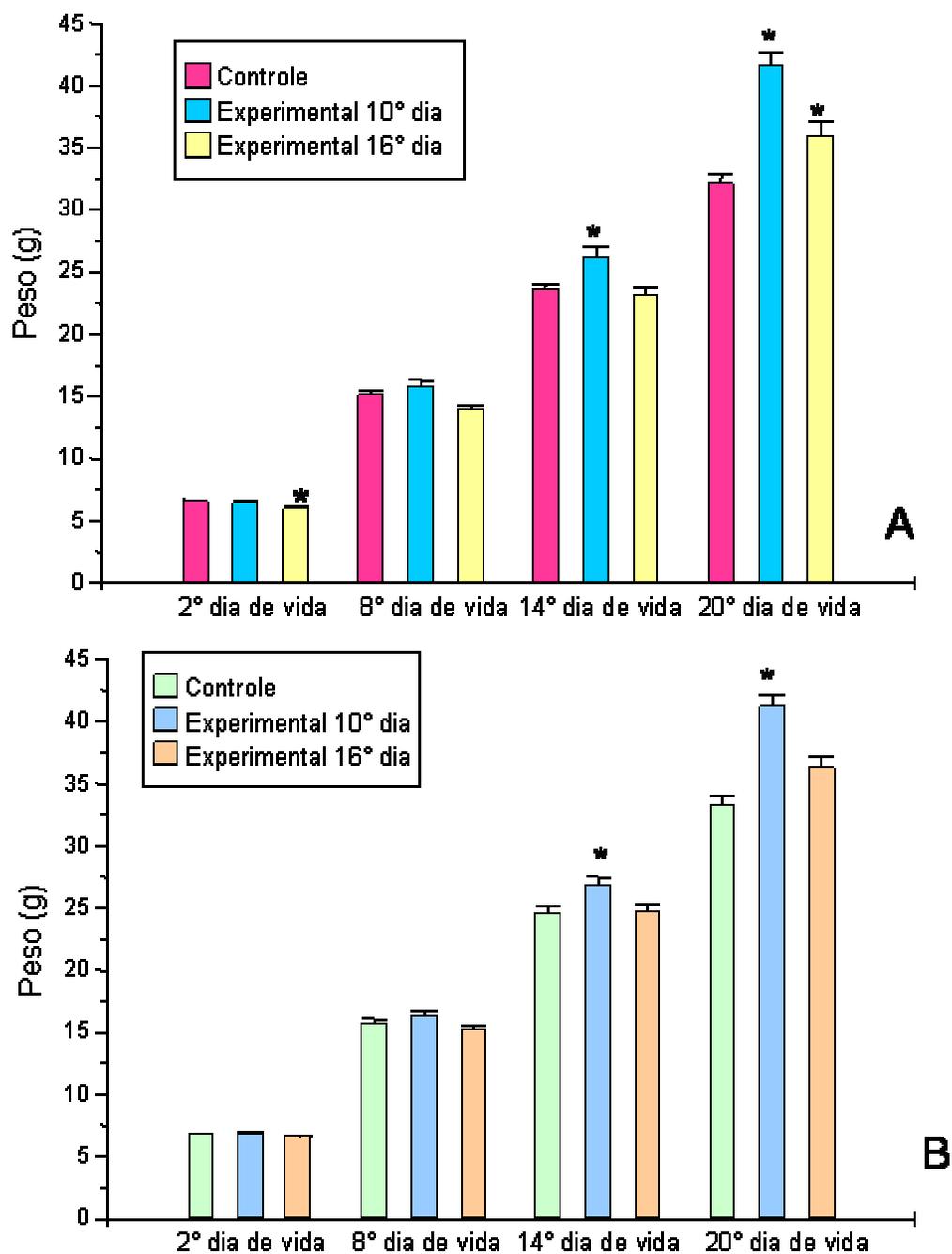


**Tabela 3** - Peso (em gramas) de filhotes machos e fêmeas provenientes de mães tratadas no 10<sup>o</sup> ou 16<sup>o</sup> dia gestacional com o veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

<b>Peso de filhotes</b>	<b>Controle</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 10<sup>o</sup> dia</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 16<sup>o</sup> dia</b>	<b>n</b>
Fêmeas no 2 <sup>o</sup> dia de vida	6,6 ± 0,1	32	6,5 ± 0,1	30	6,0 ± 0,1*	30
Fêmeas no 8 <sup>o</sup> dia de vida	15,1 ± 0,3	32	15,9 ± 0,4	30	14,1 ± 0,3	30
Fêmeas no 14 <sup>o</sup> dia de vida	23,6 ± 0,5	32	26,2 ± 0,8*	30	23,2 ± 0,6	30
Fêmeas no 20 <sup>o</sup> dia de vida	32,2 ± 0,7	32	41,7 ± 1,0*	30	36,0 ± 1,1*	30
Machos no 2 <sup>o</sup> dia de vida	6,8 ± 0,1	32	6,9 ± 0,1	32	6,58 ± 0,2	32
Machos no 8 <sup>o</sup> dia de vida	15,7 ± 0,3	32	16,4 ± 0,4	32	15,3 ± 0,3	32
Machos no 14 <sup>o</sup> dia de vida	24,6 ± 0,5	32	26,8 ± 0,7*	32	24,7 ± 0,6	32
Machos no 20 <sup>o</sup> dia de vida	33,2 ± 0,8	32	41,2 ± 0,9*	30	36,2 ± 1,0	32

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média

\* Significativamente diferente do controle (p < 0,05) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer



**Figura 3:** Peso em gramas, de filhotes fêmeas (A) e machos (B) provenientes de mães tratadas no 10º ou 16º dia gestacional com o veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Os dados se referem à média  $\pm$  erro padrão da média.

\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer.

**4.3. Experimento 3 - Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis* sobre os parâmetros do desenvolvimento reflexológico no período pós-natal da prole de ratas tratadas no 10º ou no 16º dia de prenhez.**

Na prole de mães tratadas no 10º dia gestacional não foram observadas alterações na latência para a ocorrência do reflexo de fêmeas filhotes (tabela 4, figura 4). Nos machos, observou-se diminuição da latência de ocorrência da preensão palmar no 8º dia de vida (tabela 5, figura 4). No reflexo postural, não foram observadas alterações significantes em nenhum dos dias de observação em fêmeas filhotes (tabela 6, figura 5). Nos machos, observou-se uma diminuição da latência para a ocorrência desse reflexo no 4º dia de vida (tabela 7, figura 5). Não foram observadas alterações nos outros dias de observação. No reflexo de geotaxia negativa, não foram observadas alterações significantes, tanto em filhotes machos como em fêmeas, em nenhum dos dias de observação, conforme verificado na tabela 8 e 9 e figura 6.

No desenvolvimento neurocomportamental da prole de mães tratadas no 16º dia gestacional foi observada uma diminuição da latência de ocorrência do reflexo de preensão palmar em fêmeas no 6º e no 8º dia de vida (tabela 4, figura 4). Nos machos filhotes dessas mesmas mães foi observada uma diminuição do tempo de ocorrência do reflexo de preensão palmar no 8º dia de vida, conforme verificado na tabela 5 e figura 4. Não foram observadas alterações no outros dias de observação. No reflexo postural não foram observadas alterações significantes, tanto em filhotes machos como em fêmeas, em nenhum dos dias de observação, conforme verificado na tabela 6 e 7 e figura 5. No reflexo de geotaxia negativa houve aumento da latência para a ocorrência do reflexo em filhotes fêmeas no 6º e no 12º dia de vida (tabela 8, figura 6). Nos outros dias de observação das fêmeas não houve alterações significantes. Nos filhotes machos foi observado aumento do tempo de ocorrência do reflexo de geotaxia negativa no 6º e 12º dia de vida (tabela 9, figura 6). Os outros dias de observação não tiveram alterações significantes.

**Tabela 4** - Tempo de ocorrência (em segundos) do reflexo de preensão palmar, em filhotes fêmeas, da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Dias de observação do reflexo	Controle	n	Veneno 10º dia	n	Veneno 16º dia	n
4º dia de vida	1,2 ± 0,1	31	1,3 ± 0,2	30	1,0 ± 0,1	34
6º dia de vida	2,0 ± 0,3	31	1,7 ± 0,2	31	1,2 ± 0,1*	34
8º dia de vida	6,5 ± 2,3	30	3,0 ± 1,4	29	1,3 ± 0,2*	32

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média

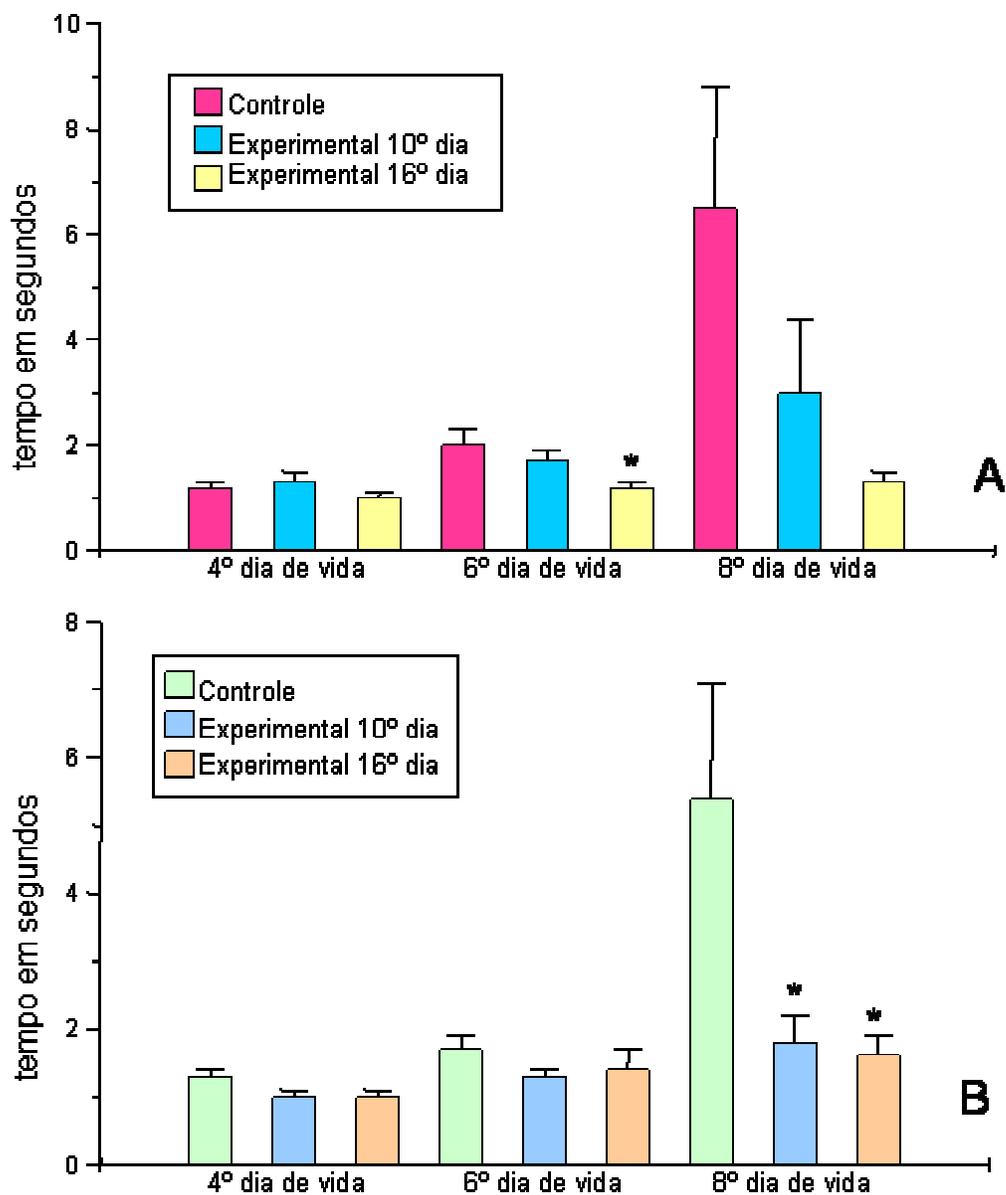
\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer

**Tabela 5**- Tempo de ocorrência (em segundos) do reflexo de preensão palmar, em filhotes machos, da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Dias de observação do reflexo	Controle	n	Veneno 10º dia	n	Veneno 16º dia	n
4º dia de vida	1,3 ± 0,1	32	1,0 ± 0,1	33	1,0 ± 0,1	30
6º dia de vida	1,7 ± 0,2	32	1,3 ± 0,1	32	1,4 ± 0,3	30
8º dia de vida	5,4 ± 1,7	30	1,8 ± 0,4*	33	1,6 ± 0,3*	28

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média

\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer



**Figura 4:** Tempo de ocorrência, em segundos, do reflexo de preensão palmar de filhotes fêmeas (A) e machos (B) da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Os dados se referem à média  $\pm$  erro padrão da média.

\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer.

**Tabela 6** - Tempo de ocorrência (em segundos) do reflexo postural, em filhotes fêmeas, da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

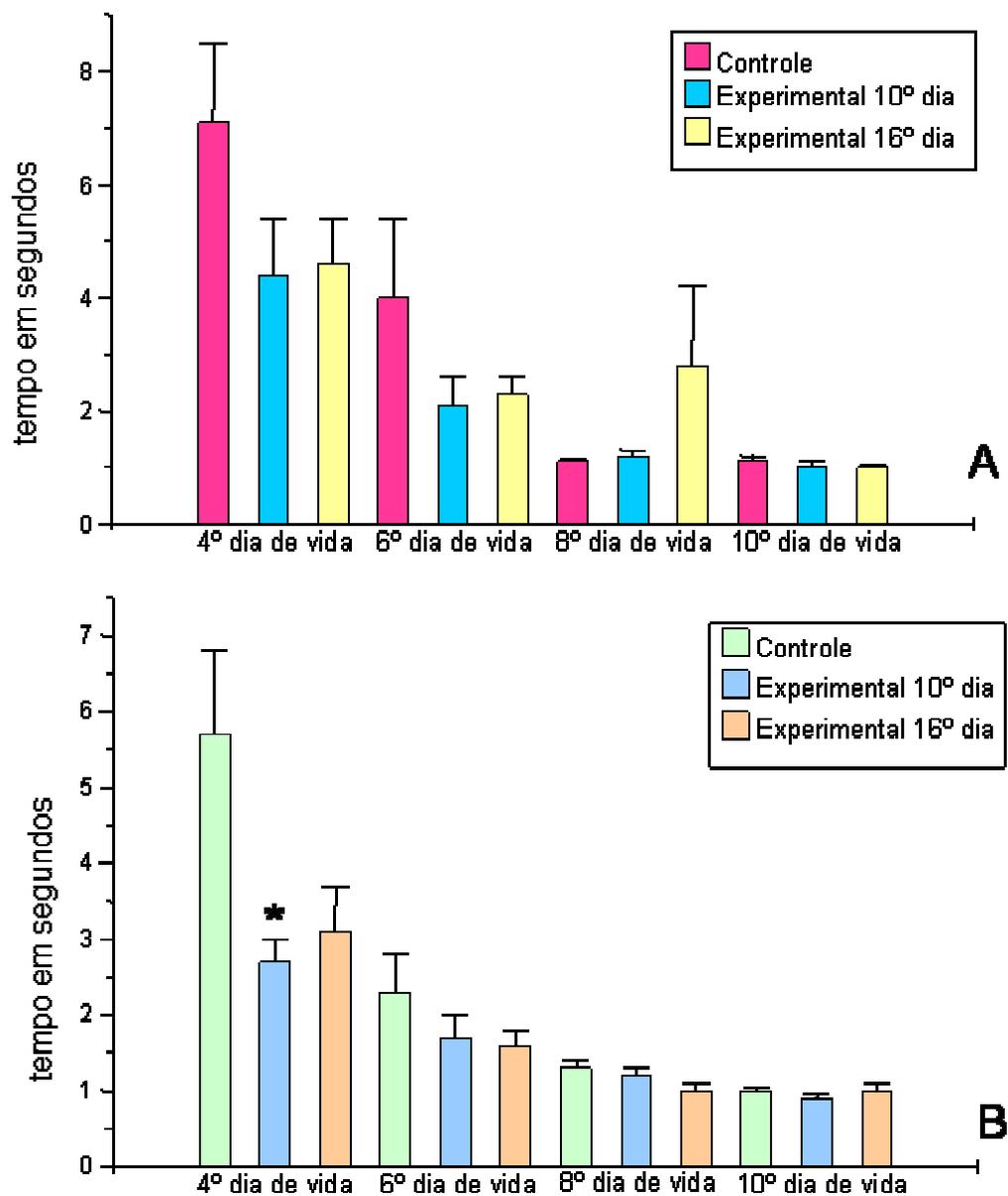
Dias de observação do reflexo	Controle	n	Veneno 10º dia	n	Veneno 16º dia	n
4º dia de vida	7,1 ± 1,4	31	4,4 ± 1,0	31	4,6 ± 0,8	34
6º dia de vida	4,0 ± 1,4	31	2,1 ± 0,5	31	2,3 ± 0,3	34
8º dia de vida	1,1 ± 0,1	31	1,2 ± 0,1	31	2,8 ± 1,4	33
10º dia de vida	1,1 ± 0,1	31	1,0 ± 0,1	30	1,0 ± 0,1	33

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média  
 Teste ANOVA ( $p < 0,05$ ) seguido de teste de Tukey Kramer

**Tabela 7** - Tempo de ocorrência (em segundos) do reflexo postural, em filhotes machos, da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Dias de observação do reflexo	Controle	n	Veneno 10º dia	n	Veneno 16º dia	n
4º dia de vida	5,7 ± 1,1	32	2,7 ± 0,3*	33	3,1 ± 0,6	30
6º dia de vida	2,3 ± 0,5	32	1,7 ± 0,3	33	1,6 ± 0,2	30
8º dia de vida	1,3 ± 0,1	31	1,2 ± 0,1	32	1,0 ± 0,1	29
10º dia de vida	1,0 ± 0,1	32	0,9 ± 0,1	32	1,0 ± 0,1	28

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média  
 \* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer



**Figura 5:** Tempo de ocorrência, em segundos, do reflexo postural de filhotes fêmeas (A) e machos (B) da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Os dados se referem à média  $\pm$  erro padrão da média.

\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer.

**Tabela 8** - Tempo de ocorrência (em segundos) do reflexo de geotaxia negativa, em filhotes fêmeas, da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Dias de observação do reflexo	Controle	n	Veneno 10º dia	n	Veneno 16º dia	n
6º dia de vida	35,7 ± 4,1	31	43,8 ± 4,4	30	51,0 ± 4,4*	29
8º dia de vida	20,2 ± 2,8	31	20,3 ± 2,2	31	28,5 ± 3,2	34
10º dia de vida	12,3 ± 1,0	31	12,3 ± 1,8	30	16,0 ± 2,3	33
12º dia de vida	6,7 ± 0,7	31	7,9 ± 0,9	30	9,5 ± 0,8*	32

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média

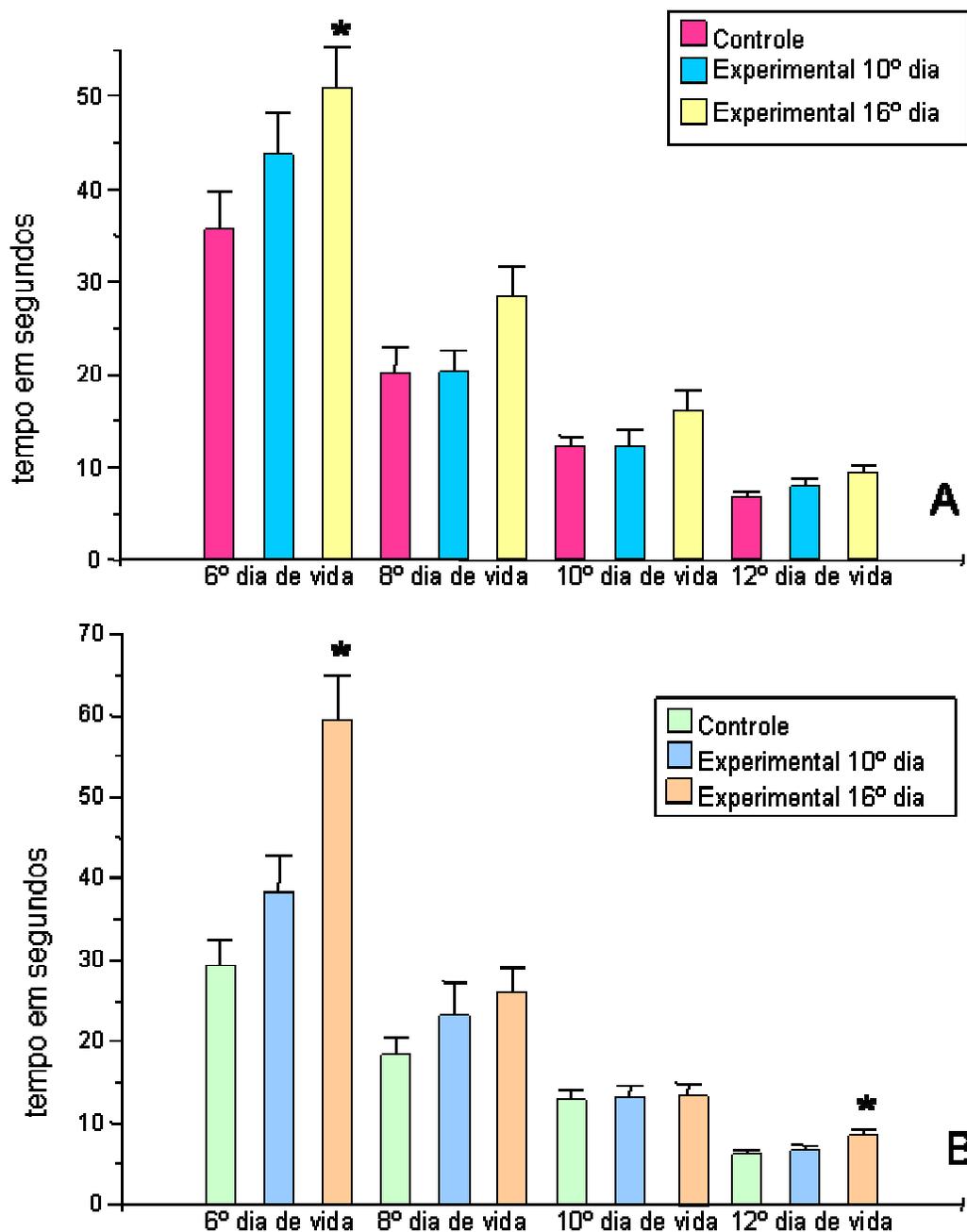
\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer

**Tabela 9** - Tempo de ocorrência (em segundos) do reflexo de geotaxia negativa, em filhotes machos, da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Dias de observação do reflexo	Controle	n	Veneno 10º dia	n	Veneno 16º dia	n
6º dia de vida	29,3 ± 3,1	31	38,3 ± 4,5	33	59,5 ± 5,4*	27
8º dia de vida	18,4 ± 2,2	32	23,3 ± 4,0	33	26,1 ± 2,9	29
10º dia de vida	12,9 ± 1,1	32	13,1 ± 1,5	33	13,6 ± 1,3	29
12º dia de vida	6,2 ± 0,5	32	6,7 ± 0,6	33	8,5 ± 0,8*	29

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média

\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer



**Figura 6:** Tempo de ocorrência, em segundos, do reflexo de geotaxia negativa de filhotes fêmeas (A) e machos (B) da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Os dados se referem à média  $\pm$  erro padrão da média.

\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) - Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer.

**4.4. Experimento 4 – Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis* sobre a atividade geral e locomoção na prole no período pós-natal e na vida adulta, quando administrado no 10º ou no 16º dia de prenhez.**

Nos filhotes de mães tratadas no 10º dia gestacional, a atividade geral (tabela 10 e 11, figura 7) registrada pela caixa de atividade e a atividade locomotora (tabela 12 e 13, figura 8) não sofreram alterações significantes, tanto nos filhotes machos como nas fêmeas. Nos animais avaliados na idade adulta, aos 2 meses de vida, houve uma diminuição da atividade geral de machos registrada pela caixa de atividade no dia de observação (tabela 14, figura 9). Também foi observada uma diminuição da atividade locomotora dos machos em relação ao grupo controle (tabela 15, figura 9). A atividade geral e a locomoção das fêmeas, na idade adulta não sofreram alterações significantes, conforme verificado nas tabelas 16 e 17 e figura 9.

Nos filhotes de mães tratadas no 16º dia de gestação, verificou-se um aumento da atividade de locomoção registrada pela caixa de atividade no 18º dia de vida dos filhotes machos, como mostra a tabela 13 e figura 8. Na atividade geral total, registrada pela caixa de atividade, observou-se um aumento da atividade no 18º dia de vida dos filhotes machos (tabela 15, figura 7). As fêmeas filhotes não apresentaram alterações significantes na atividade geral (tabela 10, figura 7) e na locomoção (tabela 12, figura 8) em nenhum dos dias de observação. Na idade adulta, tanto os machos como as fêmeas observadas não apresentaram alterações significantes em relação ao grupo controle, na atividade geral (tabela 14, figura 9) e na locomoção (tabela 15, figura 9).

Os grupos de animais observados no período pós-natal e na idade adulta não são compostos pelos mesmos indivíduos.

**Tabela 10-** Registro da atividade geral na caixa de atividade (em unidades de movimentação) observado em filhotes fêmeas da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

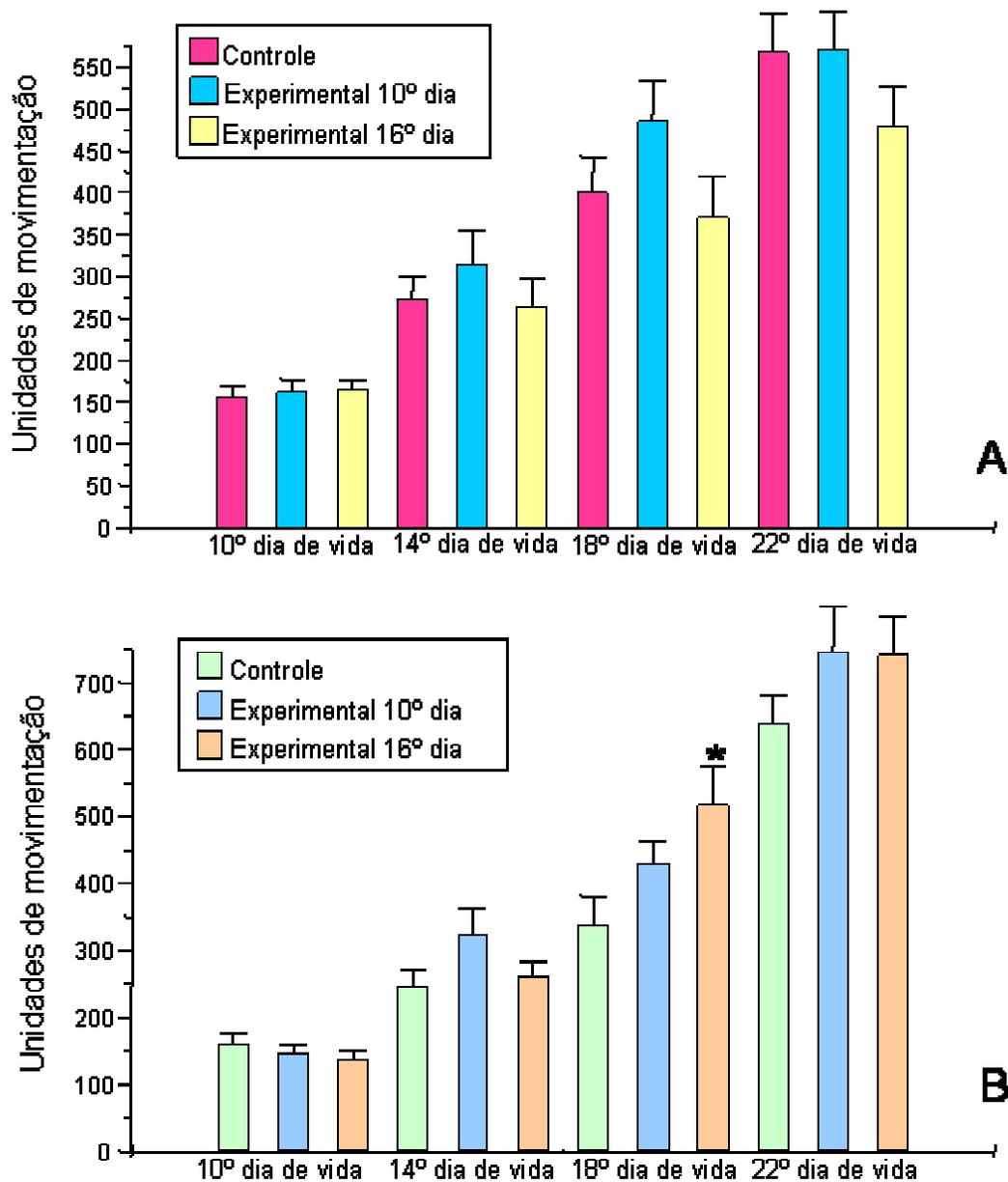
<b>Dias de observação</b>	<b>Controle</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 10º dia</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 16º dia</b>	<b>n</b>
10º dia de vida	156,3 ± 13,6	31	162,2 ± 15,2	30	164,8 ± 11,1	32
14º dia de vida	271,5 ± 28,1	31	314,2 ± 40,7	30	264,0 ± 32,6	32
18º dia de vida	400,9 ± 42,3	31	485,8 ± 49,0	30	370,8 ± 48,7	32
22º dia de vida	568,0 ± 46,8	31	571,3 ± 45,2	30	479,7 ± 47,1	32

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média  
 Teste ANOVA ( $p > 0,05$ ) seguido de teste de Tukey Kramer

**Tabela 11-** Registro da atividade geral na caixa de atividade (em unidades de movimentação) observado em filhotes machos da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

<b>Dias de observação</b>	<b>Controle</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 10º dia</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 16º dia</b>	<b>n</b>
10º dia de vida	160,5 ± 16,3	32	149,5 ± 11,6	33	137,9 ± 12,2	29
14º dia de vida	246,5 ± 24,8	32	323,4 ± 39,7	33	260,0 ± 23,8	29
18º dia de vida	337,2 ± 44,4	28	430,5 ± 32,9	33	517,8 ± 56,7*	29
22º dia de vida	638,7 ± 42,3	29	745,5 ± 66,9	33	741,4 ± 57,2	29

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média  
 \* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer



**Figura 7.** Registro da atividade geral na caixa de atividade, em unidades de movimentação, observada em filhotes fêmeas (A) e machos (B) da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Os dados se referem à média  $\pm$  erro padrão da média.

\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer.

**Tabela 12** - Registro da atividade locomotora na caixa de atividade (em unidades de movimentação) observado em filhotes fêmeas da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

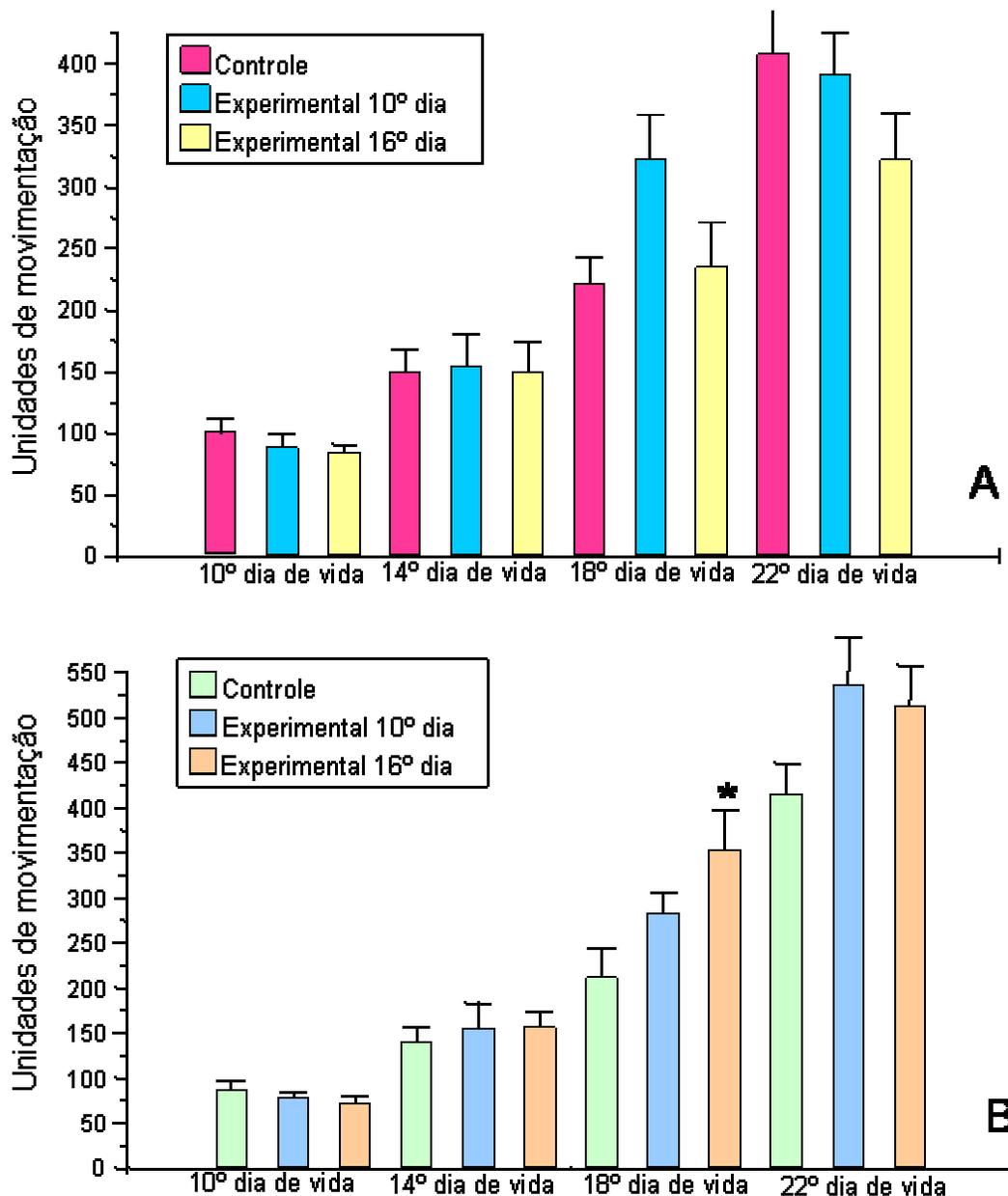
Dias de observação	Controle	n	Veneno 10º dia	n	Veneno 16º dia	n
10º dia de vida	98,5 ± 13,3	31	88,8 ± 10,3	30	84,1 ± 6,8	32
14º dia de vida	149,8 ± 18,7	31	154,8 ± 25,8	30	150,2 ± 24,1	32
18º dia de vida	220,8 ± 21,8	21	322,6 ± 36,0	30	235,0 ± 35,4	32
22º dia de vida	408,4 ± 35,6	31	391,8 ± 34,1	30	322,7 ± 37,3	32

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média  
 Teste ANOVA ( $p < 0,05$ ) seguido de teste de Tukey Kramer

**Tabela 13** - Registro da atividade locomotora na caixa de atividade (em unidades de movimentação) observado em filhotes machos da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Dias de observação	Controle	n	Veneno 10º dia	n	Veneno 16º dia	n
10º dia de vida	86,5 ± 10,1	32	77,4 ± 7,0	33	71,1 ± 8,4	29
14º dia de vida	139,1 ± 17,3	32	155,6 ± 27,5	33	156,1 ± 17,4	29
18º dia de vida	211,2 ± 32,5	28	283,0 ± 23,5	33	353,9 ± 43,5*	29
22º dia de vida	415,5 ± 33,8	29	536,1 ± 52,7	33	513,2 ± 45,0	29

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média  
 \* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer



**Figura 8:** Registro da atividade locomotora na caixa de atividade, em unidades de movimentação, observada em filhotes fêmeas (A) e machos (B) na prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Os dados se referem à média  $\pm$  erro padrão da média.

\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer.

**Tabela 14** - Registro da atividade geral na caixa de atividade (em unidades de movimentação) observado em fêmeas e machos na idade adulta, provenientes da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

<b>Atividade Geral</b>	<b>Controle</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 10º dia</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 16º dia</b>	<b>n</b>
Fêmeas	613,1 ± 34,0	14	539,2 ± 38,5	14	617,0 ± 47,7	14
Machos	542,6 ± 30,9	14	392,7 ± 22,0*	14	499,2 ± 40,6	14

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média

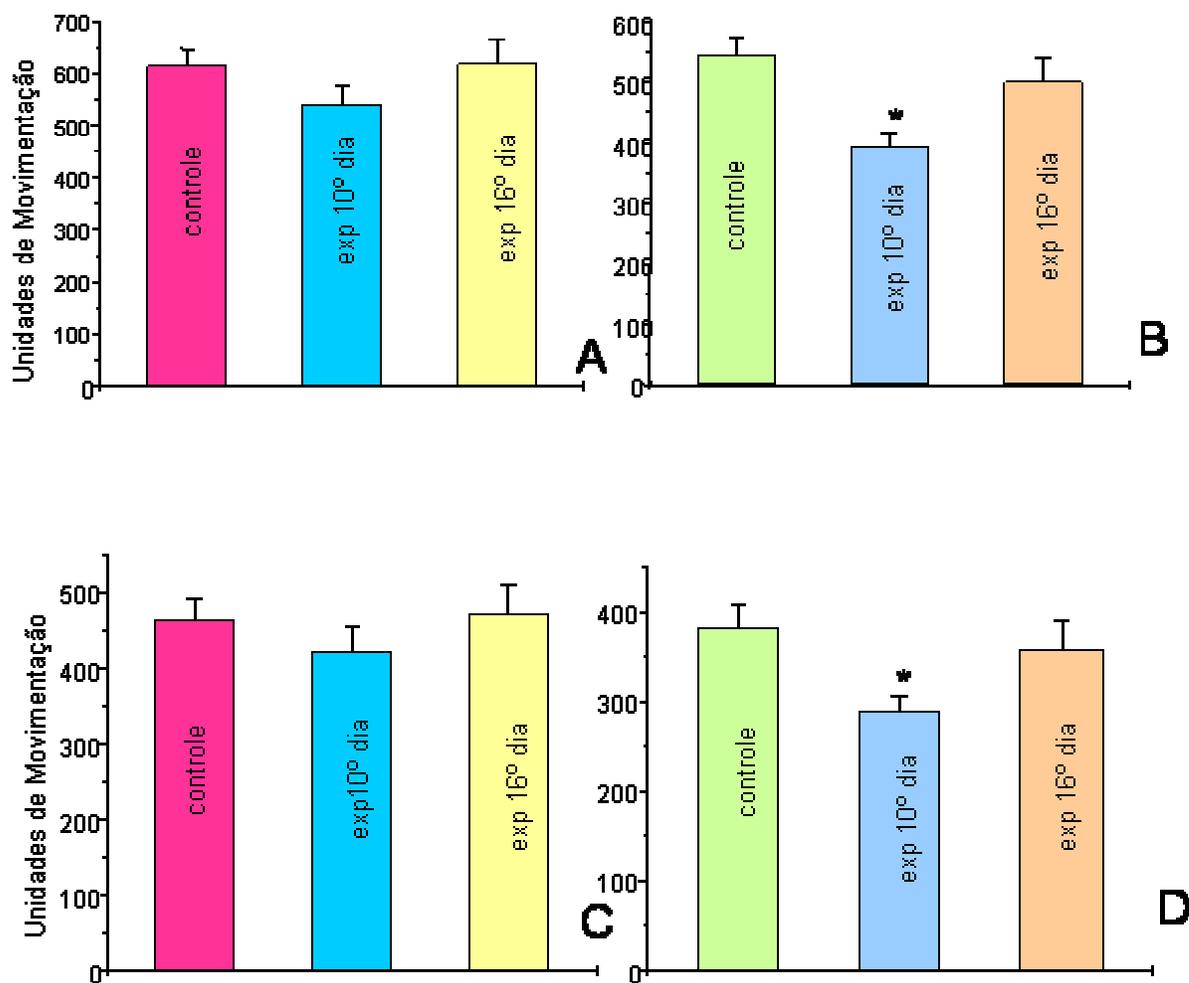
\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer

**Tabela 15** - Registro da atividade locomotora na caixa de atividade (em unidades de movimentação) observado em fêmeas e machos na idade adulta, provenientes da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

<b>Locomoção</b>	<b>Controle</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 10º dia</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 16º dia</b>	<b>n</b>
Fêmeas	463,9 ± 28,4	14	422,1 ± 34,0	14	470,2 ± 40,8	14
Machos	381,9 ± 25,8	14	287,9 ± 18,2*	14	358,1 ± 33,0	14

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média

\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer



**Figura 9:** Registro da atividade geral na caixa de atividade, em unidades de movimentação, observada em filhotes fêmeas adultas (A) e machos adultos (B) e da atividade locomotora de filhotes fêmeas adultas (C) e machos adultos (D) da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Os dados se referem à média ± erro padrão da média.

\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) - Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer.

**4.5. Experimento 5 – Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis* sobre a natação forçada na idade adulta, quando administrado no 10º ou no 16º dia de prenhez.**

Nos animais provenientes de mães tratadas no 10º dia gestacional, submetidos à natação forçada na idade adulta, foi observado diminuição na latência para as fêmeas pararem de nadar, conforme verificado na tabela 16 e figura 10. A imobilidade das fêmeas não teve alteração significativa em relação ao grupo controle (tabela 16, figura 10). Nos machos não foi observada alteração significativa na latência para parar de nadar e na imobilidade desses animais (tabela 17, figura 10).

Nos animais que tiveram as mães tratadas no 16º dia de gestação submetidos à natação forçada na idade adulta não houve alterações significantes em nenhum dos parâmetros observados tanto em fêmeas como em machos (tabela 16 e 17, e figura 10).

**Tabela 16** - Tempo de ocorrência (em segundos) de natação forçada em filhotes fêmeas na vida adulta, provenientes da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

<b>Natação Forçada</b>	<b>Controle</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 10º dia</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 16º dia</b>	<b>n</b>
Parar de Nadar	44,4 ± 5,5	14	24,2 ± 4,4*	14	27,1 ± 5,7	14
Imobilidade	71,4 ± 15,6	14	101,6 ± 15,7	14	43,3 ± 8,3	14

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média

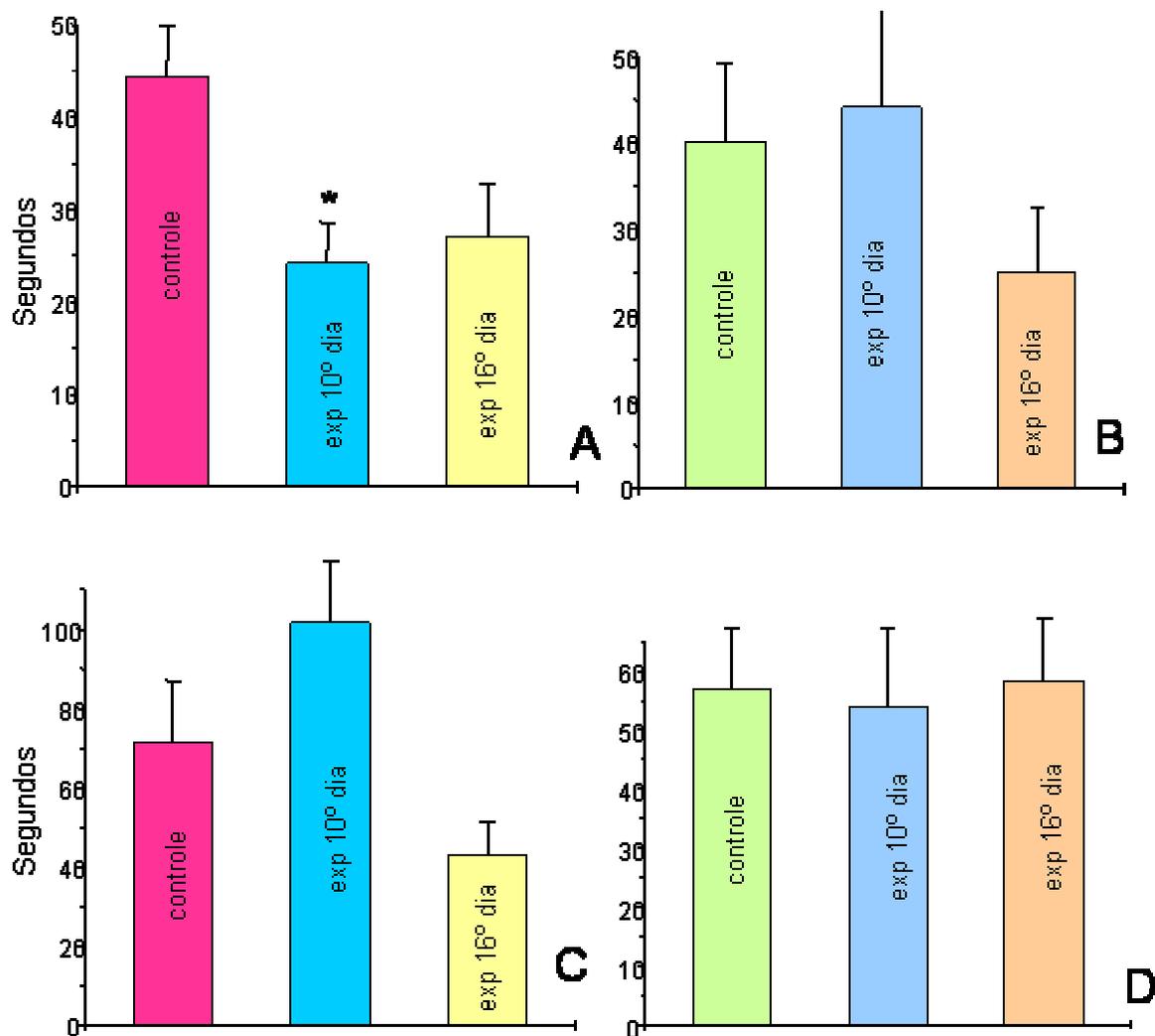
\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer

**Tabela 17** - Tempo de ocorrência (em segundos) de natação forçada em filhotes machos na vida adulta, provenientes da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

<b>Natação Forçada</b>	<b>Controle</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 10º dia</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 16º dia</b>	<b>n</b>
Parar de Nadar	40,2 ± 9,0	14	44,2 ± 11,1	14	25,1 ± 7,4	14
Imobilidade	57,0 ± 10,3	14	53,8 ± 13,3	14	58,2 ± 10,7	14

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média

Teste ANOVA ( $p < 0,05$ ) seguido de teste de Tukey Kramer



**Figura 10:** Tempo para parar de nadar, em segundos, de filhotes de filhotes fêmeas adultas (A) e machos adultos (B) e do tempo, em segundos, de imobilidade de filhotes fêmeas adultas (C) e machos adultos (D) da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Os dados se referem à média  $\pm$  erro padrão da média.

\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) - Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer.

**4.6. Experimento 6 – Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis* sobre o ambiente enriquecido na idade adulta, quando administrado no 10º ou no 16º dia de prenhez.**

Nos animais provenientes de mães tratadas no 10º dia de gestação observados no ambiente enriquecido na idade adulta não foi verificada alteração significativa nas fêmeas em nenhum dos parâmetros avaliados (tabela 18, figura 11). Nos machos desse grupo houve diminuição da atividade geral e locomotora, registrada pela caixa de atividade e, não houve alterações significantes na exploração, conforme a tabela 19 e figura 11.

Nos animais que tiveram as mães tratadas no 16º dia gestacional, submetidos na vida adulta ao ambiente enriquecido, não houve alterações significantes na atividade geral, na locomoção e na exploração do ambiente das fêmeas (tabela 18, figura 11) e dos machos (tabela 19, figura 11).

**Tabela 18** - Registro da atividade geral e locomotora, em unidades de movimentação, e da exploração, em segundos, no ambiente enriquecido na caixa de atividade observado em filhotes fêmeas na idade adulta, provenientes da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

<b>Ambiente Enriquecido</b>	<b>Controle</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 10º dia</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 16º dia</b>	<b>n</b>
Atividade Geral	753,7 ± 65,8	14	628,7 ± 62,3	14	676,2 ± 53,3	14
Locomoção	588,8 ± 56,5	14	466,7 ± 49,0	14	509,8 ± 44,9	14
Exploração	88,3 ± 8,4	14	104,4 ± 13,8	14	75,6 ± 8,5	14

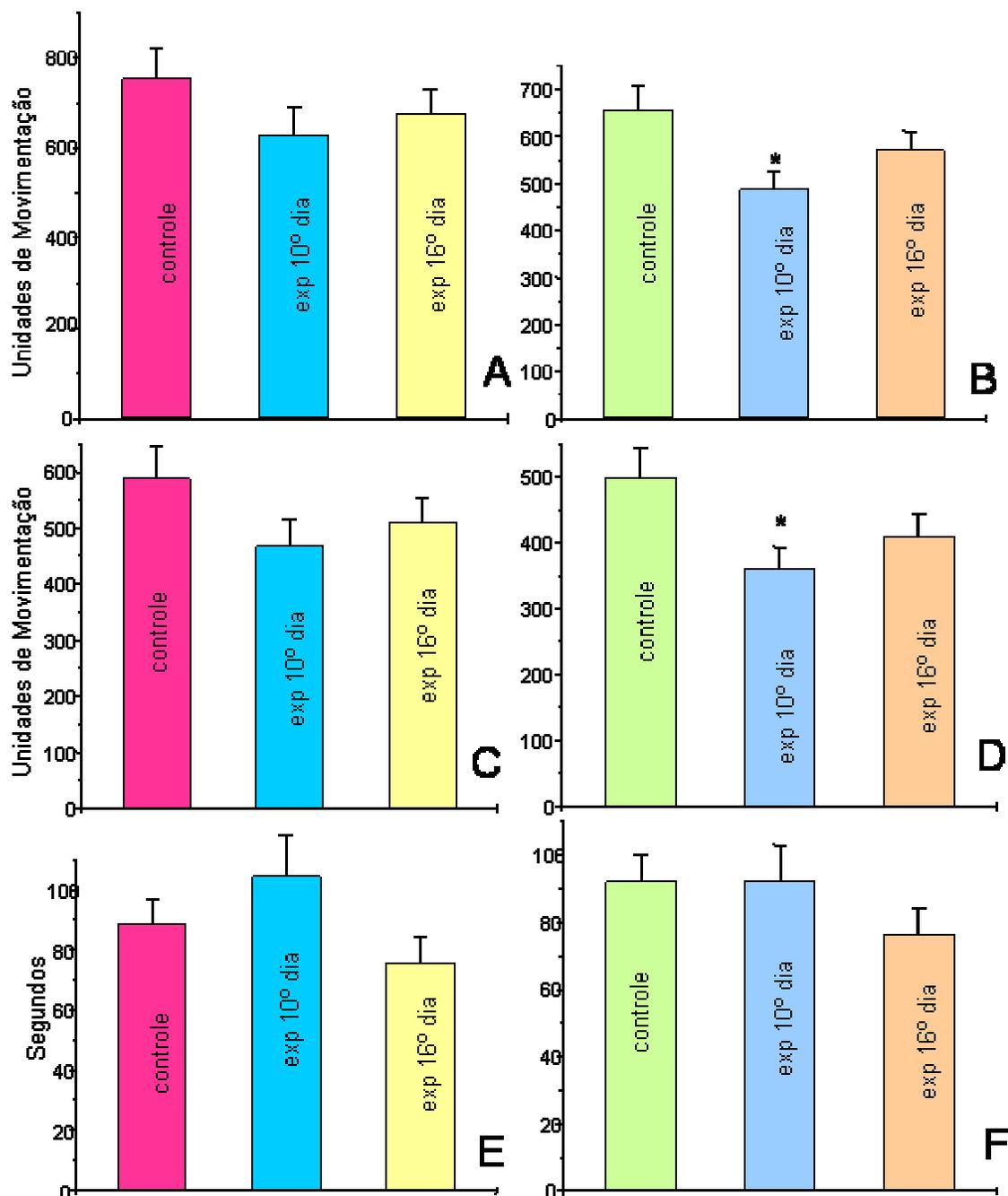
- Os dados se referem à média ± erro padrão da média  
 Teste ANOVA ( $p < 0,05$ ) seguido de teste de Tukey Kramer

**Tabela 19** - Registro da atividade geral e locomotora, em unidades de movimentação, e da exploração, em segundos, no ambiente enriquecido na caixa de atividade observado em filhotes machos na idade adulta, provenientes da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

<b>Ambiente Enriquecido</b>	<b>Controle</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 10º dia</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 16º dia</b>	<b>n</b>
Atividade Geral	656,7 ± 52,5	14	488,2 ± 36,8*	14	570,2 ± 41,0	14
Locomoção	498,7 ± 45,7	14	360,5 ± 32,7*	14	409,1 ± 35,0	14
Exploração	92,1 ± 8,0	14	92,2 ± 10,9	14	76,2 ± 8,2	14

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média

\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) - Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer



**Figura 11:** Registro da atividade geral, em unidades de movimentação, observada em filhotes fêmeas adultas (A) e machos adultos (B), da atividade locomotora, em unidades de movimentação, de filhotes fêmeas adultas (C) e machos adultos (D) e da atividade exploratória, em segundos, de filhotes fêmeas adultas (E) e machos adultos (F) no ambiente enriquecido, da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Os dados se referem à média  $\pm$  erro padrão da média.

\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer.

**4.7. Experimento 7 – Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis* sobre a interação social na idade adulta, quando administrado no 10º ou no 16º dia de prenhez.**

Nos animais que tiveram as mães tratadas no 10º dia de prenhez, submetidos à interação social na idade adulta, não houve nenhuma alteração significativa em fêmeas e em machos no tempo de ocorrência do teste, em relação ao grupo controle conforme verificado na tabela 20 e figura 12.

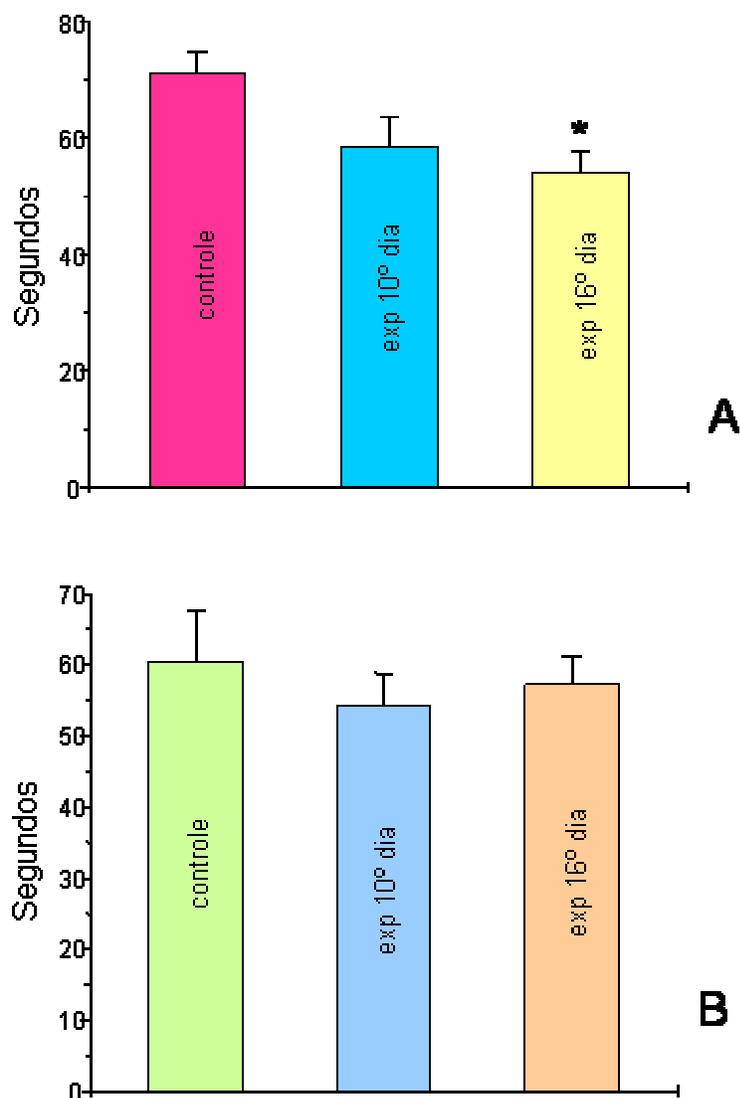
Nos animais provenientes de mães tratadas no 16º dia de gestação, submetidos à interação social, houve diminuição do tempo de ocorrência de interação social em fêmeas (tabela 20, figura 12). Os machos não mostraram nenhuma alteração significativa, em relação ao grupo controle (tabela 20, figura 12).

**Tabela 20** - Tempo de ocorrência (em segundos) da interação social de filhotes fêmeas e machos na vida adulta, provenientes da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

<b>Interação Social</b>	<b>Controle</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 10º dia</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 16º dia</b>	<b>n</b>
Fêmeas	71,1 ± 3,7	12	58,6 ± 4,9	12	46,0 ± 3,6*	12
Machos	60,5 ± 7,2	14	54,3 ± 4,5	14	57,2 ± 4,0	14

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média

\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer



**Figura 12:** Tempo de ocorrência, em segundos, da interação social de filhotes fêmeas adultas (A) e machos adultos (B) da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Os dados se referem à média  $\pm$  erro padrão da média.

\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer.

**4.8. Experimento 8 – Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis* sobre a esquiva discriminativa em labirinto em cruz elevado na idade adulta, quando administrado no 10º ou no 16º dia de prenhez.**

Na sessão de treinamento, as fêmeas que tiveram as mães tratadas no 10º dia de gestação não apresentaram alterações no número de entradas nos braços do labirinto em cruz (tabela 21, figuras 13, 14, 15), no tempo de permanência nos braços (tabela 25, figuras 16, 17, 18) e no número de *neck in's* (tabela 29, figuras 19, 20, 21). Os machos apresentaram aumento do número de entradas no braço não-aversivo (tabela 22, figura 14). O tempo de permanência nos braços (tabela 26, figuras 16, 17, 18) e o número de *neck in's* (tabela 30, figuras 19, 20, 21) não foram alterados.

Na sessão de teste as fêmeas também não apresentaram alterações no número de entradas nos braços do labirinto em cruz (tabela 23, figuras 13, 14, 15), no tempo de permanência nos braços (tabela 27, figuras 16, 17, 18) e no número de *neck in's* (tabela 31, figuras 19, 20, 21). Os machos apresentaram aumento do número de entradas no braço aberto (tabela 24, figura 13), aumento do tempo de permanência nos braços abertos (tabela 28 e figura 16) e diminuição no tempo de permanência no braço não-aversivo (tabela 28, figura 17) e não houve alterações no número de *neck in's* (tabela 32, figuras 19, 20, 21) nos braços do labirinto em cruz.

Na prole de mães tratadas no 16º dia gestacional, na sessão de treinamento, não houve alterações no número de entradas nos braços (tabela 21, figuras 13, 14, 15), tempo de permanência nos braços (tabela 25, figuras 16, 17, 18) e no número de *neck in's* (tabela 29, figuras 19, 20, 21) nos braços, nas fêmeas. Em machos, houve aumento do tempo de permanência no braço aberto (tabela 26 e figura 16) e diminuição do tempo de permanência no braço não-aversivo (tabela 26, figura 17). O número de entradas nos braços (tabela 22, figuras 13, 14, 15) e o número de *neck in's* (tabela 30, figuras 19, 20, 21) não foram alterados.

Na sessão de teste, as fêmeas, não apresentaram alteração no número de entradas nos braços (tabela 23, figura 13, 14, 15), no tempo de permanência nos braços (tabela 27, figuras 16, 17, 18) e no número de *neck in's* nos braços (tabela 31, figuras 19, 20, 21). Os machos apresentaram aumento no tempo de permanência no braço aberto (tabela 28, figura 16). O número de entradas nos braços (tabela 24, figuras 13, 14, 15) e o número de *neck in's* (tabela 32, figuras 19, 20, 21) não foram alterados.

**Tabela 21** – Número de entradas nos braços aversivo, não-aversivo e abertos na esquiva discriminativa em labirinto em cruz, na sessão de treinamento, em fêmeas na vida adulta, provenientes da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

<b>Braço do labirinto em cruz</b>	<b>Controle</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 10º dia</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 16º dia</b>	<b>n</b>
Braço aversivo	8,2 ± 1,0	12	8,8 ± 0,8	12	8,8 ± 1,1	12
Braço não-aversivo	8,7 ± 1,1	12	10,1 ± 0,8	12	9,5 ± 0,8	12
Braços abertos	9,5 ± 2,1	12	10,0 ± 1,7	12	9,8 ± 1,7	12

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média  
 Teste ANOVA ( $p < 0,05$ ) seguido de teste de Tukey Kramer

**Tabela 22** – Número de entradas nos braços aversivo, não-aversivo e abertos na esquiva discriminativa em labirinto em cruz, na sessão de treinamento, em machos na vida adulta, provenientes da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

<b>Braço do labirinto em cruz</b>	<b>Controle</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 10º dia</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 16º dia</b>	<b>n</b>
Braço aversivo	6,8 ± 1,0	12	7,9 ± 1,2	12	5,9 ± 0,7	12
Braço não-aversivo	6,1 ± 0,8	12	9,3 ± 1,0*	12	6,5 ± 0,9	12
Braços abertos	5,6 ± 1,1	12	10,3 ± 1,9	12	6,5 ± 0,9	12

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média  
 \* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer

**Tabela 23** – Número de entradas nos braços aversivo, não-aversivo e abertos na esquiva discriminativa em labirinto em cruz, na sessão de teste, em fêmeas na vida adulta, provenientes da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

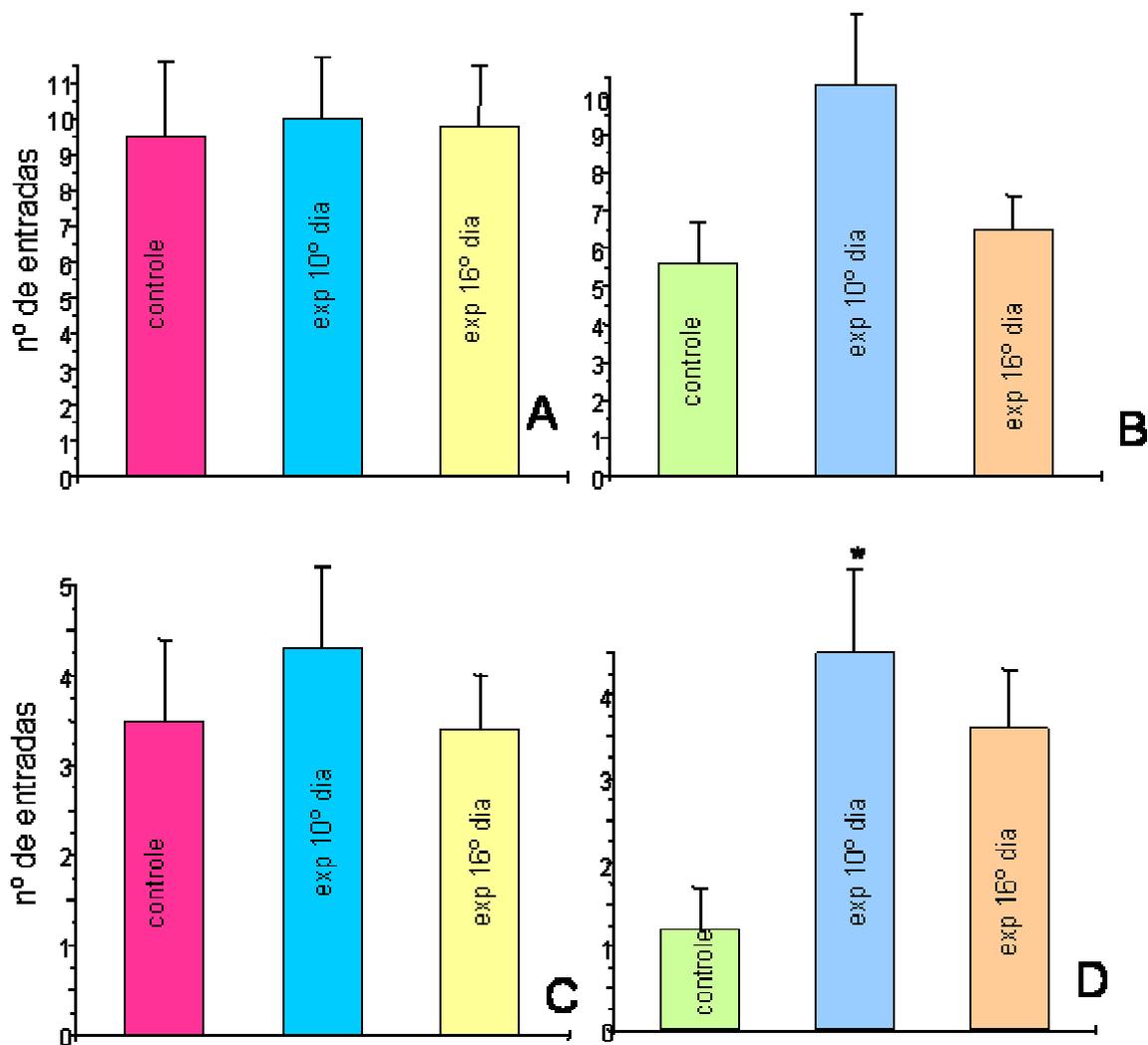
<b>Braço do labirinto em cruz</b>	<b>Controle</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 10º dia</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 16º dia</b>	<b>n</b>
Braço aversivo	3,7 ± 0,6	12	4,6 ± 0,5	12	3,7 ± 0,5	12
Braço não-aversivo	3,5 ± 0,6	12	4,8 ± 0,5	12	3,6 ± 0,5	12
Braços abertos	3,5 ± 0,9	12	4,3 ± 0,9	12	3,4 ± 0,6	12

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média  
 Teste ANOVA ( $p < 0,05$ ) seguido de teste de Tukey Kramer

**Tabela 24** – Número de entradas nos braços aversivo, não-aversivo e abertos na esquiva discriminativa em labirinto em cruz, na sessão de teste, em machos na vida adulta, provenientes da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

<b>Braço do labirinto em cruz</b>	<b>Controle</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 10º dia</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 16º dia</b>	<b>n</b>
Braço aversivo	3,2 ± 0,4	12	4,5 ± 0,3	12	2,8 ± 0,4	12
Braço não-aversivo	2,8 ± 0,4	12	3,8 ± 0,3	12	3,2 ± 0,3	12
Braços abertos	1,2 ± 0,5	12	4,5 ± 1,0*	12	3,6 ± 0,7	12

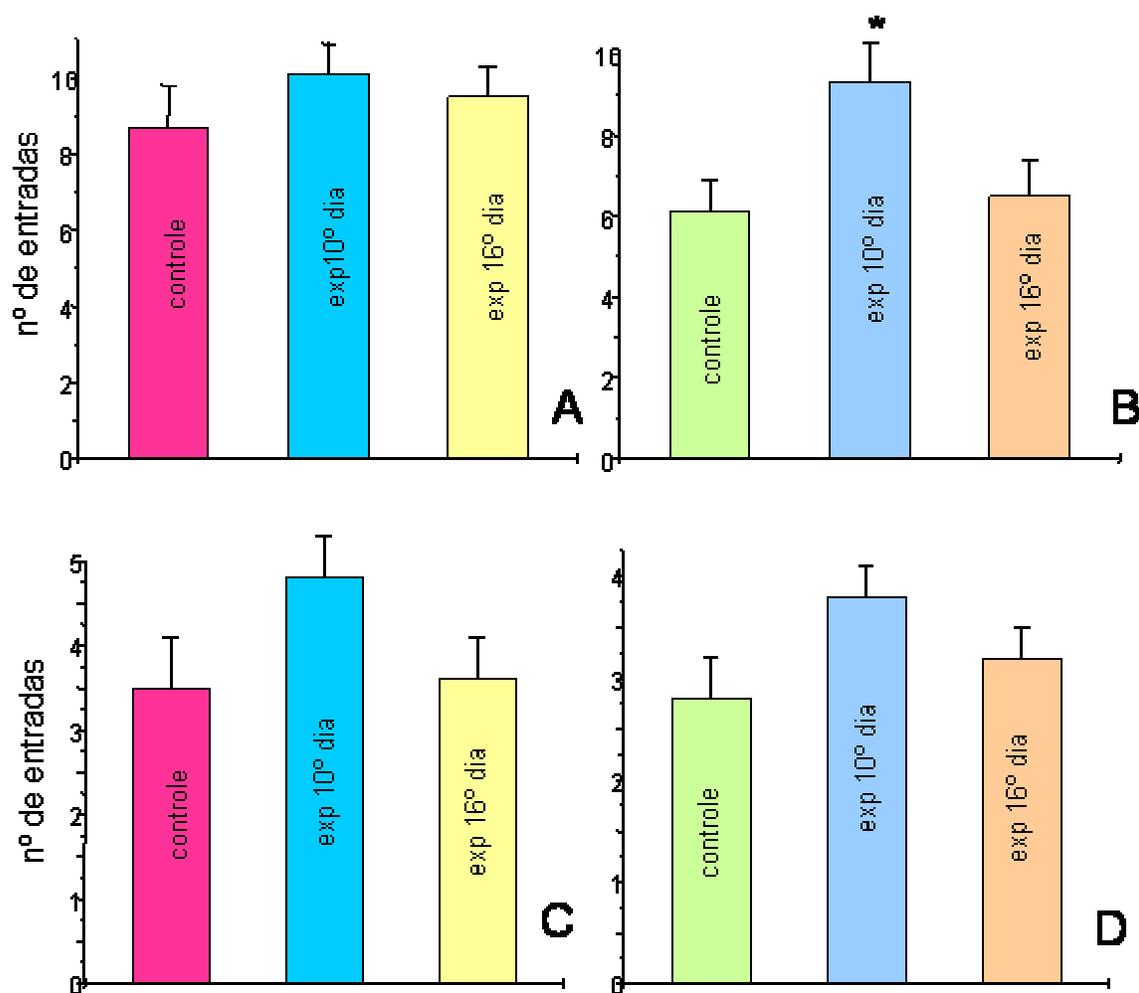
- Os dados se referem à média ± erro padrão da média  
 \* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer



**Figura 13:** Número de entradas, nos Braço abertos do Labirinto em Cruz Elevado de filhotes de filhotes fêmeas adultas (A) e machos adultos (B) na sessão de treinamento, e do número de entradas nos braços abertos do Labirinto em Cruz Elevado, na sessão de teste, de filhotes fêmeas adultas (C) e machos adultos (D) da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Os dados se referem à média  $\pm$  erro padrão da média.

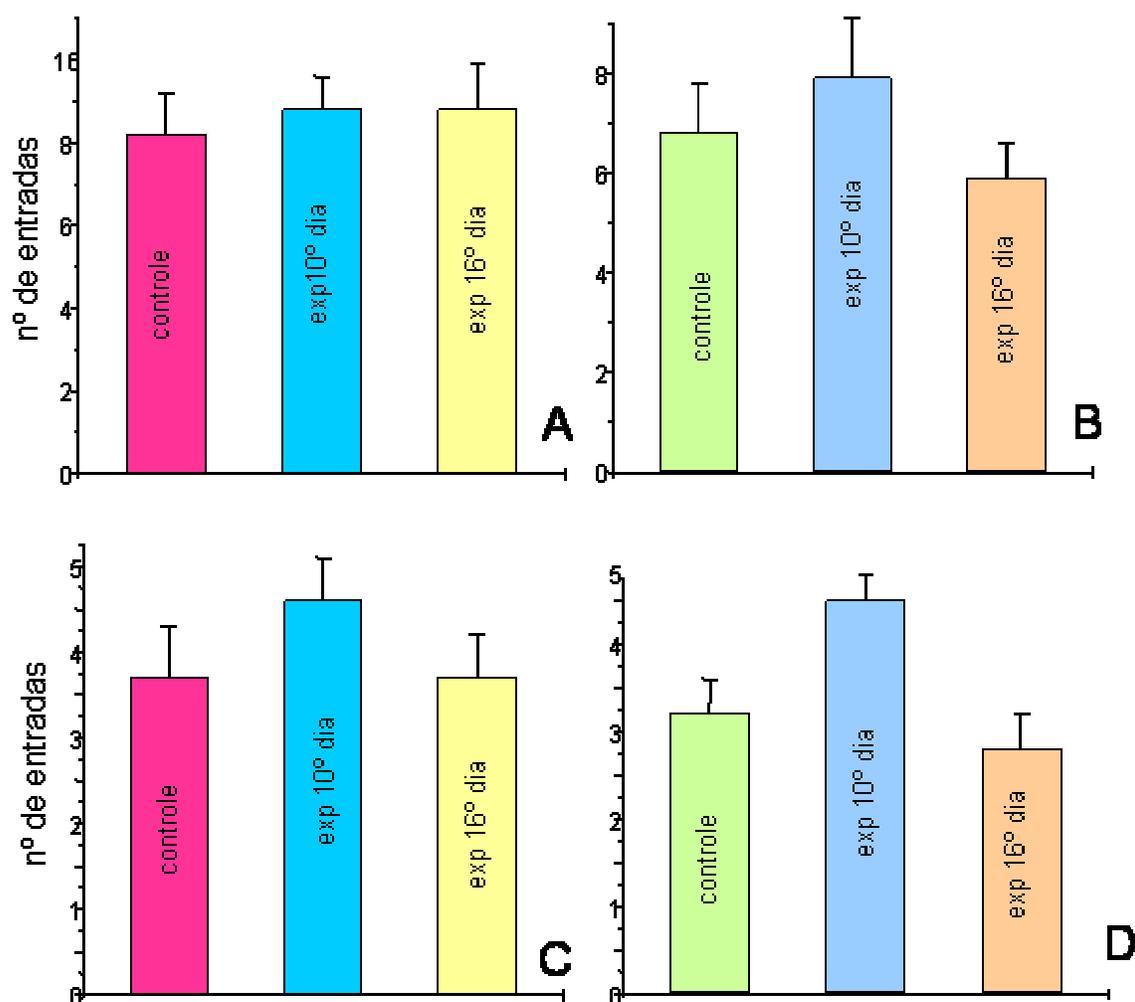
\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) - Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer.



**Figura 14:** Número de entradas, no Braço não-aversivo do Labirinto em Cruz Elevado de filhotes de filhotes fêmeas adultas (A) e machos adultos (B) na sessão de treinamento, e do número de entradas no braço não-aversivo do Labirinto em Cruz Elevado, na sessão de teste, de filhotes fêmeas adultas (C) e machos adultos (D) da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Os dados se referem à média  $\pm$  erro padrão da média.

\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer.



**Figura 15:** Número de entradas, no Braço aversivo do Labirinto em Cruz Elevado de filhotes de filhotes fêmeas adultas (A) e machos adultos (B) na sessão de treinamento, e do número de entradas no Braço aversivo do Labirinto em Cruz Elevado, na sessão de teste, de filhotes fêmeas adultas (C) e machos adultos (D) da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*. Os dados se referem à média  $\pm$  erro padrão da média.

\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) - Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer.

**Tabela 25** - Tempo de permanência (em segundos) nos braços aversivo, não-aversivo e abertos na esquiva discriminativa em labirinto em cruz, na sessão de treinamento, em fêmeas na vida adulta, provenientes da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Braço do labirinto em cruz	Controle	n	Veneno 10º dia	n	Veneno 16º dia	n
Braço aversivo	55,7 ± 12,0	12	44,0 ± 5,4	12	45,0 ± 6,0	12
Braço não-aversivo	354,5 ± 46,1	12	362,8 ± 37,8	12	341,8 ± 37,3	12
Braços abertos	133,4 ± 28,9	12	113,2 ± 27,1	12	118,5 ± 23,9	12

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média  
 Teste ANOVA ( $p < 0,05$ ) seguido de teste de Tukey Kramer

**Tabela 26** - Tempo de permanência (em segundos) nos braços aversivo, não-aversivo e abertos na esquiva discriminativa em labirinto em cruz, na sessão de treinamento, em machos na vida adulta, provenientes da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Braço do labirinto em cruz	Controle	n	Veneno 10º dia	n	Veneno 16º dia	n
Braço aversivo	53,3 ± 9,8	12	49,8 ± 12,1	12	27,4 ± 4,1	12
Braço não-aversivo	409,9 ± 34,6	12	253,6 ± 47,5	12	228,2 ± 52,1*	12
Braços abertos	73,9 ± 18,0	12	181,0 ± 36,7	12	228,3 ± 48,6*	12

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média

\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer

**Tabela 27** - Tempo de permanência (em segundos) nos braços aversivo, não-aversivo e abertos na esquiva discriminativa em labirinto em cruz, na sessão de teste, em fêmeas na vida adulta, provenientes da prole de mães tratadas no 10° ou 16° dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

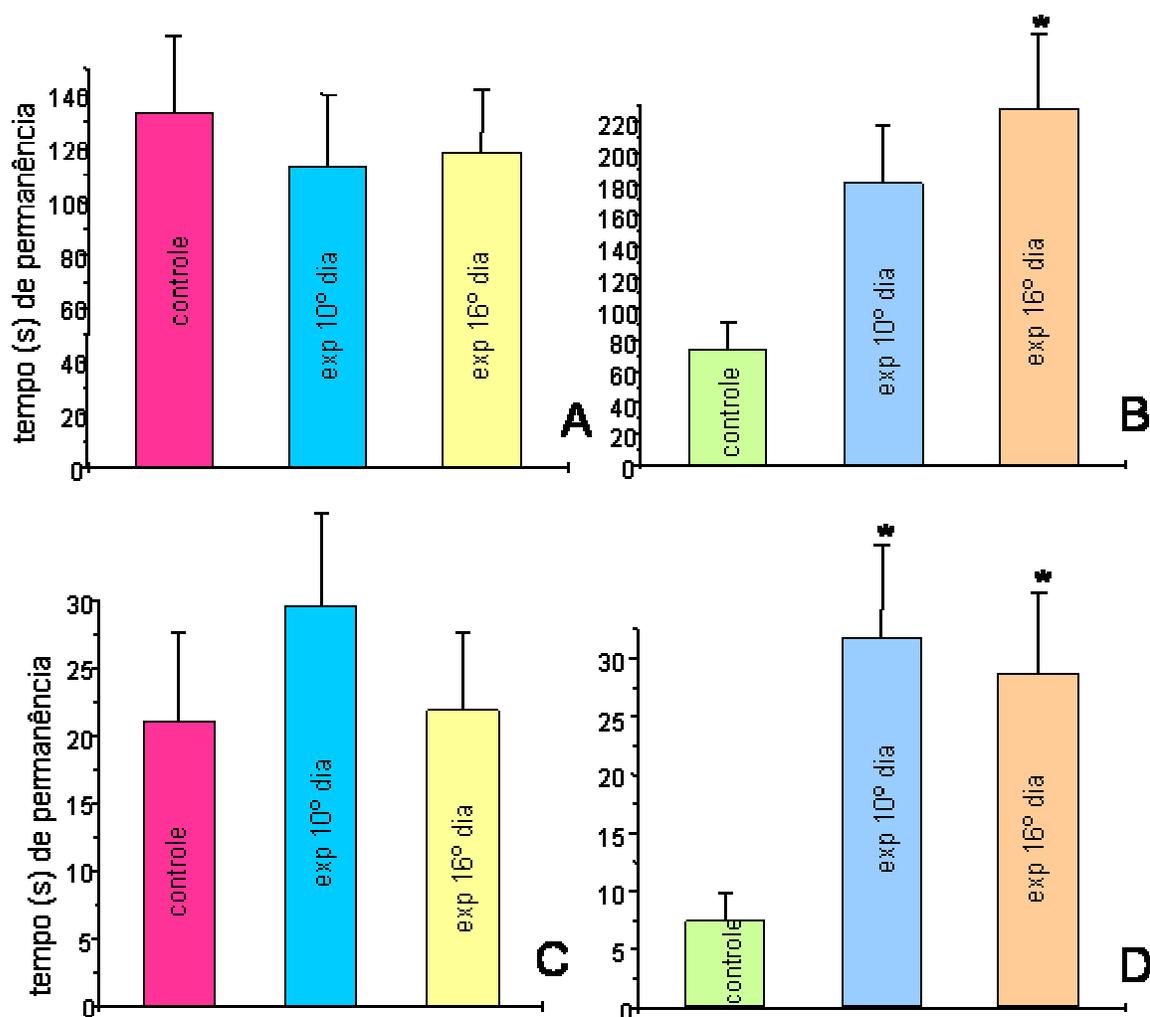
Braço do labirinto em cruz	Controle	n	Veneno 10° dia	n	Veneno 16° dia	n
Braço aversivo	57,5 ± 12,5	12	54,6 ± 6,8	12	44,6 ± 9,1	12
Braço não-aversivo	76,6 ± 12,1	12	74,0 ± 10,6	12	87,1 ± 14,8	12
Braços abertos	21,1 ± 6,5	12	29,6 ± 6,9	12	21,9 ± 5,8	12

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média  
 Teste ANOVA ( $p < 0,05$ ) seguido de teste de Tukey Kramer

**Tabela 28** - Tempo de permanência (em segundos) nos braços aversivo, não-aversivo e abertos na esquiva discriminativa em labirinto em cruz, na sessão de teste, em machos na vida adulta, provenientes da prole de mães tratadas no 10° ou 16° dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Braço do labirinto em cruz	Controle	n	Veneno 10° dia	n	Veneno 16° dia	n
Braço aversivo	48,7 ± 11,8	12	64,7 ± 8,7	12	39,1 ± 6,1	12
Braço não-aversivo	97,0 ± 14,7	12	45,0 ± 4,9*	12	72,9 ± 11,4	12
Braços abertos	7,5 ± 2,4	12	31,7 ± 8,0*	12	28,7 ± 7,0*	12

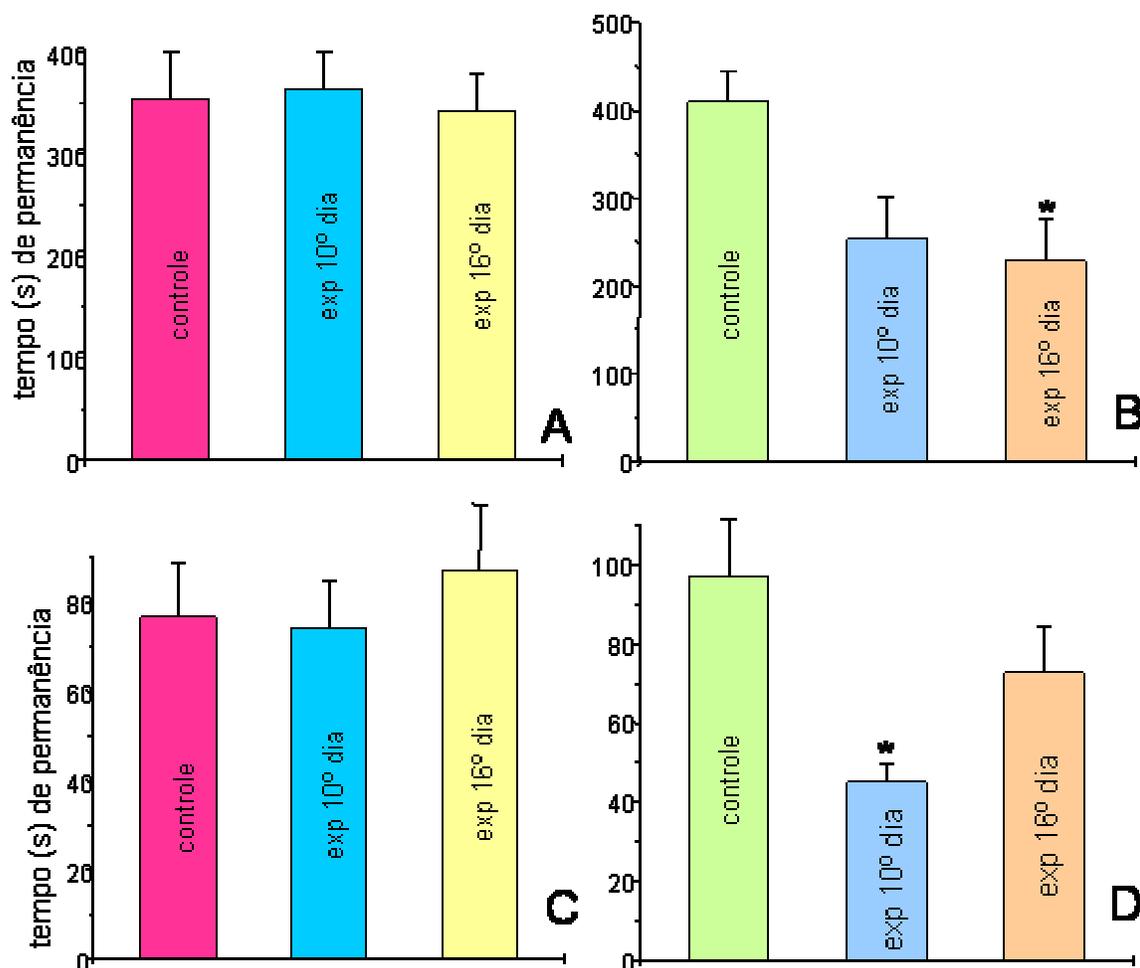
- Os dados se referem à média ± erro padrão da média  
 \* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer



**Figura 16:** Tempo de permanência, em segundos, nos braços aberto do Labirinto em Cruz Elevado de filhotes de filhotes fêmeas adultas (A) e machos adultos (B) na sessão de treinamento, e do tempo de permanência, em segundos, nos braços abertos do Labirinto em Cruz Elevado, na sessão de teste, de filhotes fêmeas adultas (C) e machos adultos (D) da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Os dados se referem à média  $\pm$  erro padrão da média.

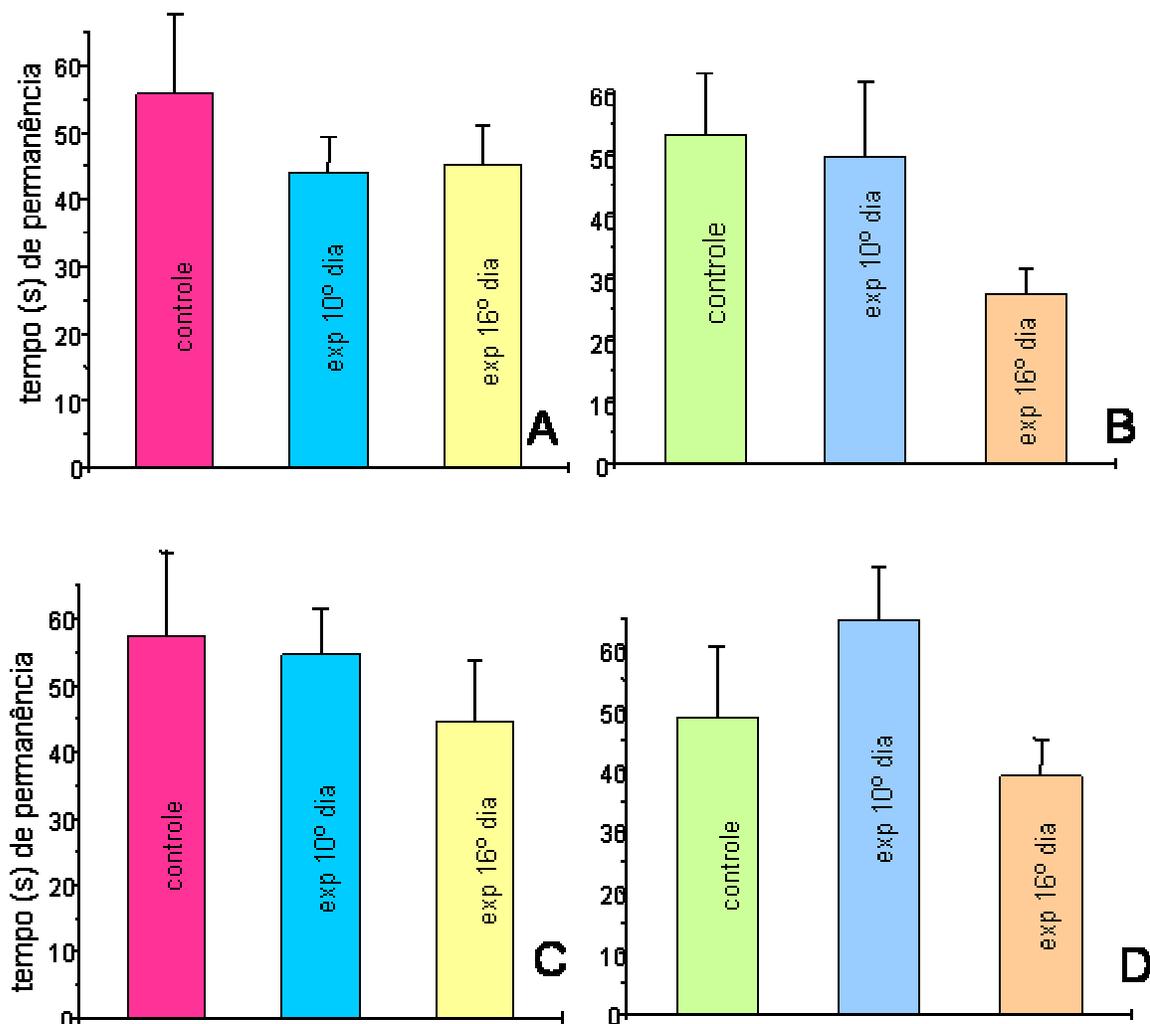
\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer.



**Figura 17:** Tempo de permanência, em segundos, no Braço não-aversivo do Labirinto em Cruz Elevado de filhotes de filhotes fêmeas adultas (A) e machos adultos (B) na sessão de treinamento, e do tempo de permanência, em segundos, no braços não-aversivo do Labirinto em Cruz Elevado, na sessão de teste, de filhotes fêmeas adultas (C) e machos adultos (D) da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Os dados se referem à média  $\pm$  erro padrão da média.

\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) - Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer.



**Figura 18:** Tempo de permanência, em segundos, no Braço aversivo do Labirinto em Cruz Elevado de filhotes de filhotes fêmeas adultas (A) e machos adultos (B) na sessão de treinamento, e do tempo de permanência, em segundos, no braço aversivo do Labirinto em Cruz Elevado, na sessão de teste, de filhotes fêmeas adultas (C) e machos adultos (D) da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Os dados se referem à média  $\pm$  erro padrão da média.

\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) - Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer.

**Tabela 29** – Número de neck in's nos braços aversivo, não-aversivo e abertos na esquiva discriminativa em labirinto em cruz, na sessão de treinamento, em fêmeas na vida adulta, provenientes da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Braço do labirinto em cruz	Controle	n	Veneno 10º dia	n	Veneno 16º dia	n
Braço aversivo	2,5 ± 0,5	12	2,2 ± 0,4	12	2,6 ± 0,7	12
Braço não-aversivo	1,0 ± 0,3	12	0,6 ± 0,4	12	0,3 ± 0,2	12
Braços abertos	5,2 ± 0,7	12	3,6 ± 0,6	12	4,2 ± 0,8	12

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média  
 Teste ANOVA ( $p < 0,05$ ) seguido de teste de Tukey Kramer

**Tabela 30** – Número de neck in's nos braços aversivo, não-aversivo e abertos na esquiva discriminativa em labirinto em cruz, na sessão de treinamento, em machos na vida adulta, provenientes da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Braço do labirinto em cruz	Controle	n	Veneno 10º dia	n	Veneno 16º dia	n
Braço aversivo	2,4 ± 0,6	12	3,3 ± 0,8	12	2,9 ± 0,6	12
Braço não-aversivo	0,9 ± 0,4	12	1,5 ± 0,4	12	0,7 ± 0,3	12
Braços abertos	4,1 ± 0,7	12	4,9 ± 0,6	12	3,3 ± 0,7	12

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média  
 Teste ANOVA ( $p < 0,05$ ) seguido de teste de Tukey Kramer

**Tabela 31** – Número de neck in's nos braços aversivo, não-aversivo e abertos na esquiva discriminativa em labirinto em cruz, na sessão de teste, em fêmeas na vida adulta, provenientes da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

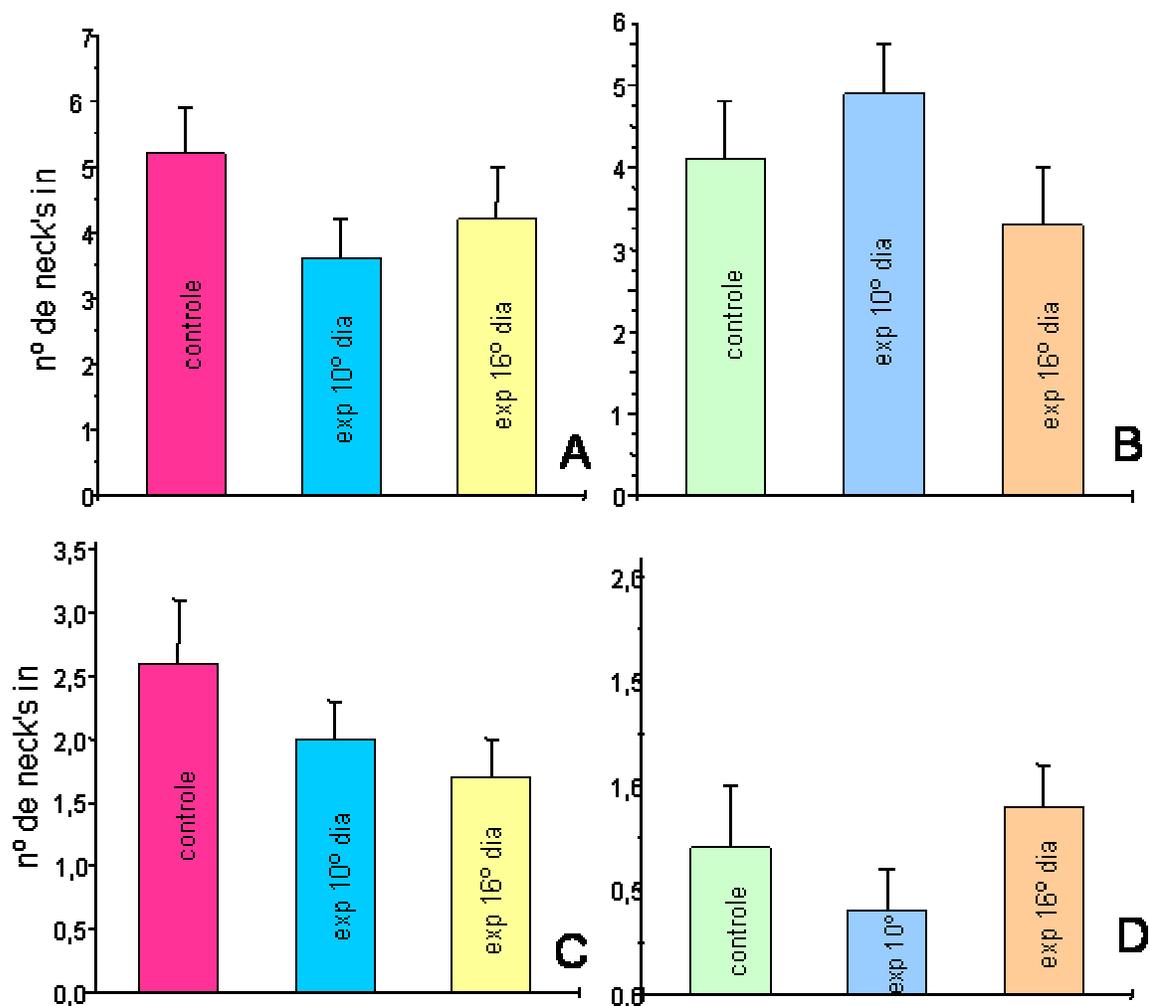
<b>Braço do labirinto em cruz</b>	<b>Controle</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 10º dia</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 16º dia</b>	<b>n</b>
Braço aversivo	0,7 ± 0,2	12	0,4 ± 0,3	12	0,7 ± 0,2	12
Braço não-aversivo	0,6 ± 0,2	12	0,4 ± 0,2	12	0,6 ± 0,2	12
Braços abertos	2,6 ± 0,5	12	2,0 ± 0,3	12	1,7 ± 0,3	12

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média  
 Teste ANOVA ( $p < 0,05$ ) seguido de teste de Tukey Kramer

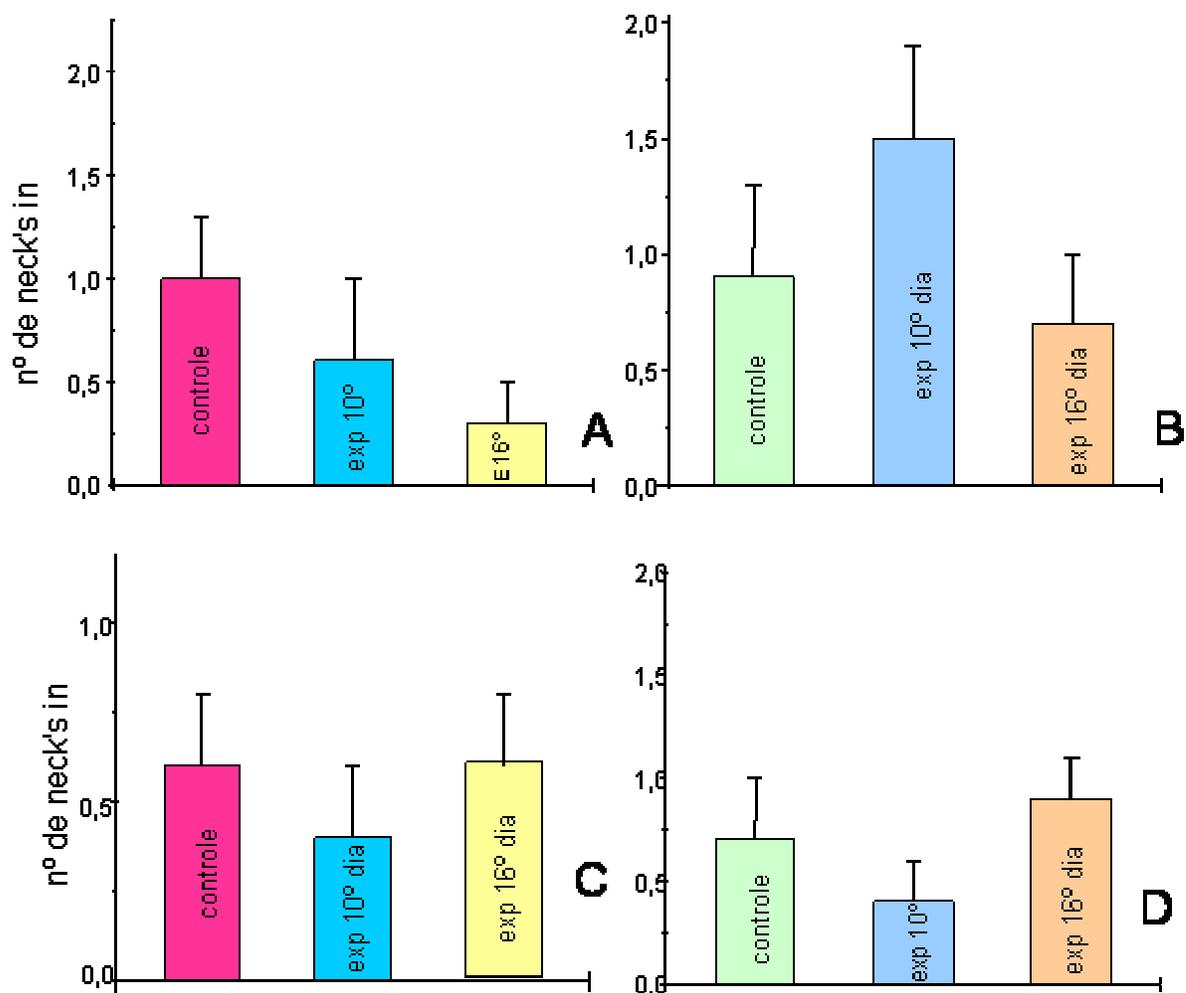
**Tabela 32** – Número de neck in's nos braços aversivo, não-aversivo e abertos na esquiva discriminativa em labirinto em cruz, na sessão de teste, em machos na vida adulta, provenientes da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

<b>Braço do labirinto em cruz</b>	<b>Controle</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 10º dia</b>	<b>n</b>	<b>Veneno 16º dia</b>	<b>n</b>
Braço aversivo	0,3 ± 0,1	12	0,9 ± 0,4	12	0,6 ± 0,2	12
Braço não-aversivo	0,7 ± 0,3	12	0,4 ± 0,2	12	0,9 ± 0,2	12
Braços abertos	2,8 ± 0,7	12	2,4 ± 0,6	12	1,7 ± 0,4	12

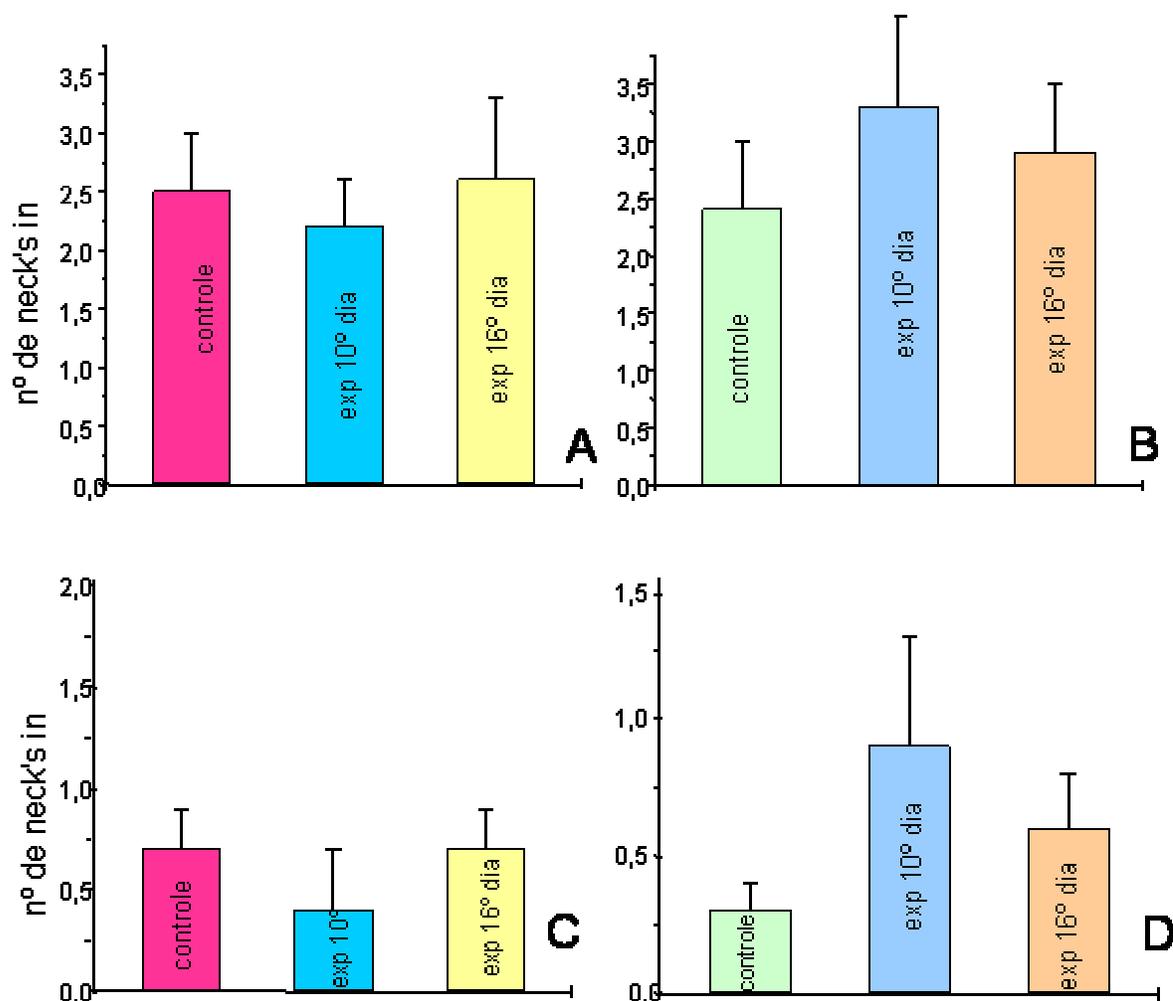
- Os dados se referem à média ± erro padrão da média  
 \* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer



**Figura 19:** Número de *neck's in* nos braços abertos do Labirinto em Cruz Elevado de filhotes de filhotes fêmeas adultas (A) e machos adultos (B) na sessão de treinamento, e do número de *neck's in* nos braços abertos do Labirinto em Cruz Elevado, na sessão de teste, de filhotes fêmeas adultas (C) e machos adultos (D) da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*. Os dados se referem à média  $\pm$  erro padrão da média.



**Figura 20:** Número de *neck's in* no braço não-aversivo do Labirinto em Cruz Elevado de filhotes de filhotes fêmeas adultas (A) e machos adultos (B) na sessão de treinamento, e do número de *neck's in* no braço não-aversivo do Labirinto em Cruz Elevado, na sessão de teste, de filhotes fêmeas adultas (C) e machos adultos (D) da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*. Os dados se referem à média  $\pm$  erro padrão da média.



**Figura 21:** Número de *neck's in* no braço aversivo do Labirinto em Cruz Elevado de filhotes de filhotes fêmeas adultas (A) e machos adultos (B) na sessão de treinamento, e do número de *neck's in* no braço aversivo do Labirinto em Cruz Elevado, na sessão de teste, de filhotes fêmeas adultas (C) e machos adultos (D) da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de prenhez com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*. Os dados se referem à média  $\pm$  erro padrão da média.

***Experimento 9 - Efeitos da injeção do veneno bruto do escorpião Tityus bahiensis sobre a integridade neuronal de filhotes de ratas tratadas no 10º ou no 16º dia de prenhez.***

Na observação direta da área hipocampal de CA1 e CA3 realizada em filhotes com dois dias de vida (dados não ilustrados) e na contagem celular em filhotes com sete dias de vida (tabela 33; figura 22), não foram observadas alterações da integridade neuronal em ambos os grupos experimentais quando comparadas as áreas hipocampais dos animais do grupo controle.

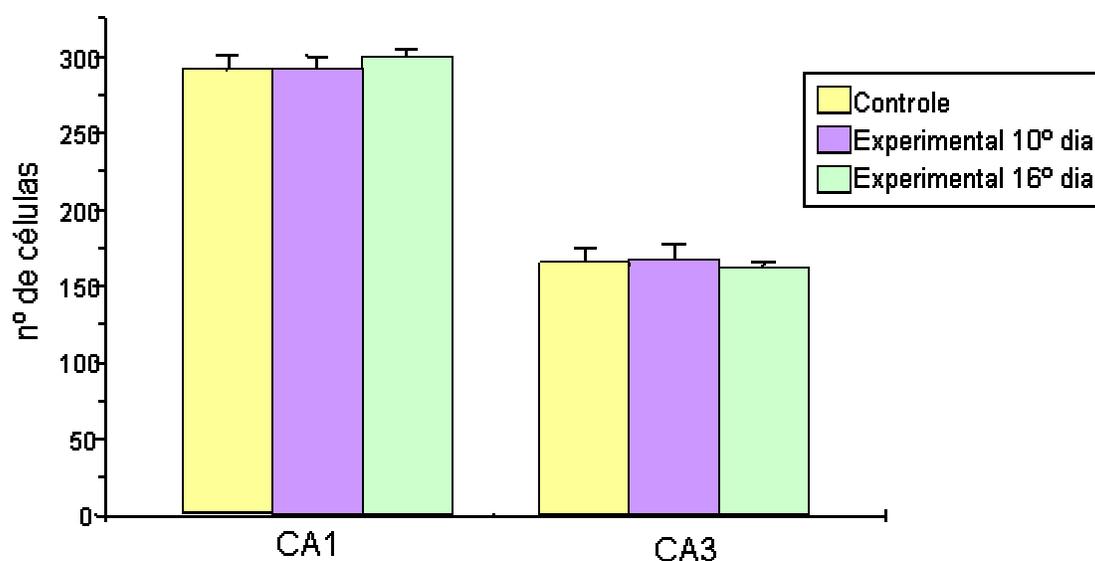
Na contagem celular feita nas áreas hipocampais de filhotes adultos, provenientes de mães tratadas com o veneno no 10º dia gestacional, foi observada perda neuronal significativa nas áreas de CA1 e CA3 (tabela 34; figura 23). A área de CA4 apresentou ligeira diminuição do número de neurônios, mas esta não foi significativa (tabela 34; figura 23).

As áreas hipocampais CA1, CA3 e CA4, de filhotes adultos provenientes de mães tratadas com o veneno no 16º dia de gestação, não apresentaram alterações significantes na contagem celular (tabela 34; figura 23).

**Tabela 33** – Contagem celular nas áreas hipocâmpais CA1 e CA3 de filhotes com sete dias de vida, provenientes da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de gestação com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Hipocampo	Controle	n	Veneno 10º dia	n	Veneno 16º dia	n
CA 1	290 ± 10,4	3	291,3 ± 8,9	3	299,6 ± 5,0	3
CA 3	165,3 ± 9,9	3	167,0 ± 10,1	3	162,3 ± 3,2	3

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média



**Figura 22:** Contagem celular nas áreas hipocâmpais CA1e CA3 de filhotes com 7 dias de vida, provenientes da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de gestação com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

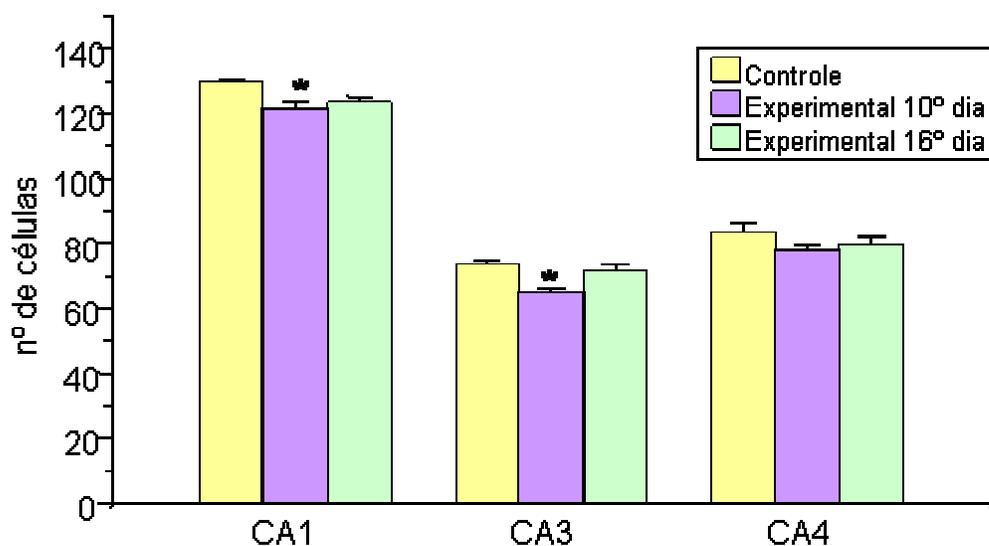
Os dados se referem à média ± erro padrão da média.

**Tabela 34** – Contagem celular nas áreas hipocâmpais CA1, CA3 e CA4 de filhotes adultos, provenientes da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de gestação com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Hipocampo	Controle	n	Veneno 10º dia	n	Veneno 16º dia	n
CA 1	129,7 ± 1,0	5	121,0 ± 2,5*	5	123,5 ± 1,6	5
CA 3	73,4 ± 1,1	5	64,7 ± 1,6*	5	71,8 ± 1,5	5
CA 4	83,6 ± 2,5	5	77,5 ± 2,3	5	79,7 ± 2,5	5

- Os dados se referem à média ± erro padrão da média

\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer



**Figura 23:** Contagem celular nas áreas hipocâmpais CA1, CA3 e CA4 de filhotes adultos, provenientes da prole de mães tratadas no 10º ou 16º dia de gestação com veneno bruto do escorpião *Tityus bahiensis*.

Os dados se referem à média ± erro padrão da média.

\* Significativamente diferente do controle ( $p < 0,05$ ) -Teste ANOVA seguido de teste de Tukey Kramer.

## 5. DISCUSSÃO

O escorpionismo é um problema de saúde pública no Brasil (Machado *et al.*, 2000), pois esses animais se adaptam a ambientes urbanos onde encontram seu alimento facilmente. A importância dos acidentes com os escorpiões está na frequência em que ocorrem e em sua gravidade. Ainda assim, são raros estudos a respeito do veneno de escorpiões brasileiros quando ocorre algum acidente com mães grávidas, causando alterações maternas e nos filhotes (Barão, 2006; Cruttenden *et al.*, 2007).

Em outros países, alguns estudos com o escorpião *Androctonus amoreuxi* indicam anomalias congênitas e reabsorção fetal quando inoculado em ratas prenhes em várias doses (Ismail *et al.*, 1983). Outros estudos com escorpiões como o *Buthus minax* e o *Leiurus quinquestriatus* mostram a capacidade que o veneno tem de induzir o aborto em mulheres grávidas (Osman *et al.*, 1972; Ismail *et al.*, 1973, 1974). Em nossos laboratórios foi demonstrado que o veneno do *Tityus serrulatus*, em doses que levam a um envenenamento leve de ratas prenhes, administrado em diferentes fases da gestação, causa alterações nos conceptos (Cruttenden *et al.*, 2007) e na prole (Barão, 2006).

Em vista disso, é importante haver estudos nesta área, já que existem poucos dados na literatura sobre a exposição pré-natal ao veneno do escorpião causando danos pós-natais. Com isso, poderíamos ter dados científicos para auxiliar na conduta médica, em casos clínicos com gestantes que sofressem algum acidente escorpiônico.

O agente utilizado nos estudos de efeitos perinatais deve ser administrado em doses com as quais não sejam observados efeitos tóxicos na mãe ou no conceito. A administração de doses que levam ao aparecimento de sintomas acentuados de intoxicação não permite concluir se as alterações apresentadas pelos filhotes seriam devidas à ação embriofetotóxica da

substância em estudo ou às alterações na homeostase materna causadas pela intoxicação, o que viria a comprometer as trocas materno/fetais (Lemônica, 1996). Neste trabalho a dose utilizada de 2,5 mg/kg do veneno do *Tityus bahiensis*, causa alterações sistêmicas após a injeção, sem levar a morte materna.

Com esta dose, a maioria dos animais testados apresentou secreção pelo nariz e olhos, dor local, taquicardia, aumento da frequência respiratória, falta de ar e rigidez muscular nas patas, principalmente nas traseiras, além de ficarem lambendo o local da injeção. Estes sinais e sintomas são compatíveis com um envenenamento moderado. Os animais apresentam estes sintomas de 5 minutos a 10 minutos após a injeção. Após esse tempo, o comportamento volta ao normal. A via de administração do veneno escolhida simula aquela que ocorre em acidentes domésticos.

Os dias de injeção foram determinados para assim serem comparados com estudos prévios realizados em nosso laboratório com o veneno do *Tityus serrulatus*. Esses dias são baseados no período de desenvolvimento do rato, segundo Manson e Kang (1989). O 10° dia está no período de organogênese, onde ocorre grande proliferação celular e formação de órgãos rudimentares, é um período crítico para a formação de vários órgãos como olhos, palato, sistema urogenital e cérebro. O 16° dia pertence ao período de desenvolvimento fetal ocorrendo principalmente a diferenciação e maturação cerebral.

Nossos dados experimentais mostraram que tanto as mães que receberam injeção de veneno no 10° dia quanto e as mães que o receberam no 16° dia gestacional não apresentaram alterações significantes de peso em nenhum dos períodos analisados. Um dos sinais mais evidentes de toxicidade materna é a alteração no ganho de peso, expresso por redução no mesmo em relação ao grupo controle (Goulart, 1999). Portanto, o veneno não causou toxicidade materna na dose administrada.

Em relação aos parâmetros físicos dos filhotes, na prole de mães tratadas no 10º dia gestacional houve aumento de peso de filhotes machos e fêmeas nos 14º e 20º dias de vida. Na prole de mães injetadas no 16º dia houve diminuição do peso das fêmeas filhotes no 2º dia de vida e aumento no 20º dia de vida, nos machos não foram encontradas alterações significantes em relação ao peso.

Efeitos pós-natais mediados diretamente via leite ou indiretamente através da negligência materna no cuidado com as ninhadas ou alterações no comportamento da mãe podem produzir alterações no desenvolvimento físico da prole (Smart e Dobbing, 1971). Além disso, qualquer tratamento experimental materno pode levar a efeitos pré-natais diretamente no feto, através da transferência placentária, ou indiretamente por intervir na função da placenta. Geralmente, estas interferências se expressam por uma redução no peso corporal da ninhada. Não há na literatura dados que relacionem o aumento de peso com substâncias tóxicas administradas durante a prenhez.

Estudos anteriores em nosso laboratório mostraram que as proles de animais que receberam uma dose semelhante do veneno do escorpião *Tityus serrulatus* no 10º dia gestacional apresentaram aumento no peso de filhotes recém nascidos e de seus pulmões (Cruttenden *et al.*, 2007). Isso pode sugerir que o aumento do peso dos filhotes pode estar relacionado com o aumento do peso de órgãos, como pulmão e fígado, mas somente estudos mais específicos poderiam comprovar esse fato.

Ainda em relação aos parâmetros físicos dos filhotes de nosso trabalho, a prole de mães tratadas com o veneno no 10º dia gestacional apresentou adiantamento do desdobramento das orelhas e da erupção dos dentes, assim como a prole de mães tratadas no 16º dia que, além disso, apresentaram atraso da abertura dos olhos.

Na literatura, não há estudos mostrando exatamente qual é o significado de cada uma dessas alterações de desenvolvimento físico que foram observadas nesse trabalho. As alterações nos parâmetros físicos como:

abertura dos olhos, erupção dos dentes incisivos, desdobramento das orelhas e abertura do orifício do ouvido têm sido explicadas, na literatura, através da interferência com os fatores de crescimento. Esses fatores são polipeptídeos e suas ações estão envolvidas com diferentes processos fisiológicos tais como crescimento, reparação, diferenciação e desenvolvimento de populações específicas de células recebendo, em geral, o nome de acordo com sua atividade específica. Vários desses fatores (Gerlon e Cueto, 2001) e citocinas (Torchinsky e Toder, 2004) relacionados ao desenvolvimento do embrião já foram identificados e caracterizados nestes últimos anos.

Para haver uma gestação bem sucedida é necessário um balanço intrauterino de citocinas. Estudos mostram que o estresse embrionário modula a expressão de um grande número de citocinas, entre elas estão o fator de necrose tumoral alfa (TNF alfa), o fator de crescimento transformante beta (TGF beta) e as interleucinas 1 (IL-1) que operam no meio intrauterino e no embrião (Torchinsky e Toder, 2004). Independente de sua natureza, os estresses embrionários perturbam primeiro o processo apoptótico, levando a um aumento da taxa de mortalidade de populações de células alvo. Ao mesmo tempo, o embrião tem uma surpreendente habilidade para compensar a morte celular excessiva. Com isso, esse estresse pode resultar ou não em perda gestacional ou mau desenvolvimento fetal (Torchinsky e Toder, 2004).

O fator de crescimento transformante beta (TGF beta) pertence a uma grande família com papel importante no crescimento de muitos órgãos e sistemas (Abreu *et al.*, 2002). Suas principais funções estão relacionadas ao controle do ciclo celular, diferenciação, regulação do desenvolvimento, formação de matriz extracelular e angiogênese (Bottner *et al.*, 2000). Outros membros dessa superfamília do TGF beta estão envolvidos no desenvolvimento do sistema nervoso (Mehler *et al.*, 1998). Uma isoforma desse fator em sinergismo com o fator de crescimento do tecido conjuntivo (CTGF) pode ter como consequência efeitos no controle ou descontrole da proliferação e/ou diferenciação celular (Abreu *et al.*, 2002). Algumas citocinas como as da família

TNF também tem papel importante no desenvolvimento do embrião (Pfeffer, 2003).

Uma outra família de fatores de crescimento, os fatores de crescimento de fibroblastos (FGF) são responsáveis por mediar várias respostas celulares durante o período de desenvolvimento do embrião. Desempenham um papel crítico na morfogênese pela regulação da proliferação, diferenciação e migração celular. Um membro dessa família, o FGF-2, tem efeitos em vários tecidos como cérebro, promovendo diferenciação e sobrevivência neuronal; músculos, promovendo a miogênese; ossos atuando no condrogênese e pele, fazendo reparos teciduais (Bikfalvi *et al.*, 2005).

Os fatores de crescimento epidérmicos (EGF) são parte de uma complexa rede de fatores de crescimento e receptores que juntos ajudam a modular o crescimento celular (Goodsell, 2003). Alguns membros da família dos EGF têm múltiplos efeitos no desenvolvimento embrionário (Gerton e Cueto, 2001) e de filhotes (Smart *et al.*, 1989). Esse fator foi isolado primeiramente de glândulas submaxilares de camundongos adultos. Certas frações do extrato da glândula submaxilar, quando injetados diariamente em camundongos recém-nascidos, produzem abertura precoce dos olhos e adiantamento na erupção dos dentes incisivos. Essas alterações morfológicas foram interpretadas como resultados do crescimento e queratinização do tecido epidérmico. Quantidades consideráveis de EGF foram detectadas no leite de camundongos mães que receberam EGF por via oral, sendo essa a causa provável da abertura precoce dos olhos nos filhotes destas (Cohen, 1962).

Em 1989, Smart *et al.*, mostraram que a administração de EGF a ratos recém-nascidos não só acelerou a erupção dos dentes incisivos e abertura dos olhos bem como retardou a abertura do canal auditivo. Com isso, dependendo do parâmetro utilizado, o EGF pode apresentar tanto ações aceleradoras como retardadoras no desenvolvimento dos ratos.

Desta forma, uma hipótese para os efeitos observados nos filhotes em ambos os dias de tratamento das mães com o veneno, poderia ser uma

conseqüência do veneno agindo sobre fatores de crescimento e/ou citocinas. No caso das mães tratadas no 16° dia de gestação, o período de exposição é menos crítico para a formação de órgãos. Sendo assim, foram observadas anomalias sutis. Já nas mães tratadas com o veneno no 10° dia gestacional, o veneno poderia estar agindo sobre a produção de fatores de crescimento interferindo na organogênese. Até o momento, não há estudos sobre o efeito do veneno de escorpiões sobre os fatores de crescimento. Somente estudos específicos poderiam comprovar esse relacionamento. Nesse sentido, os venenos de escorpião produzem injúria tecidual que leva a resposta inflamatória com conseqüente liberação de catecolaminas, bradicinina e prostaglandinas que induzem a liberação de interleucina 1 (IL-1) e interleucina 6 (IL-6) (D' Suze, *et al.*, 2003).

Ainda em relação aos parâmetros físicos da prole, foi observado adiantamento da abertura vaginal dos filhotes fêmeas de mães tratadas no 10° dia de gestação e um atraso na descida dos testículos de filhotes machos provenientes de mães tratadas no 16° dia gestacional, isso pode sugerir que o veneno causa alguma alteração nos níveis do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH).

Em ratos fêmeas, a puberdade manifesta-se por meio da abertura do canal vaginal em conseqüência da ação estrogênica. A abertura vaginal ocorre no dia após a primeira onda pré-ovulatória de gonadotrofinas (Ojeda *et al.*, 1986). A secreção de gonadotrofinas, especialmente FSH, aumenta imediatamente após o nascimento alcançando o nível máximo aos 12 dias de vida e posteriormente, decresce de forma gradual (Ojeda *et al.*, 1994). Os níveis de GnRH hipotalâmicos aumentam continuamente do nascimento à puberdade.

No início do desenvolvimento de fêmeas de rato, a maturação ovariana, por meio de conexões diretas, encontra-se dependente do sistema nervoso central, sendo não responsiva as gonadotrofinas (Ojeda *et al.*, 1986). Após o nascimento, o GnRH existente no leite materno deprime diretamente as funções ovarianas (Hsueh e Jones, 1981). Devido aos episódios de amamentação

menos freqüentes, o eixo hipotálamo-adeno-hipófise torna-se funcional, e passa a liberar com mais freqüência o GnRH. Nossos dados mostram que aparentemente as filhas de mães tratadas no 10º dia de gestação tem uma aceleração desse processo.

Em ratos machos, a puberdade manifesta-se por meio da descida dos testículos da cavidade abdominal à bolsa testicular, sendo que o processo de maturação sexual resulta de complexas interações entre hipotálamo, hipófise anterior, testículos e órgãos sexuais secundários, mesmo durante a vida intra-uterina. A maturação do eixo hipotálamo-hipófise manifesta-se pelo aumento na secreção do GnRH, tornando a hipófise mais responsiva a esse hormônio, ocorrendo alterações nos padrões de secreção de gonadotrofinas e andrógenos gonadais. Com o desenvolvimento testicular, a testosterona torna-se o andrógeno predominante e o testículo apresenta-se mais sensível à ação estimulante das gonadotrofinas (Ojeda e Urbanski, 1994).

A síntese de testosterona fetal inicia-se logo após o início da diferenciação dos túbulos espermáticos e da diferenciação histológica das células de Leydig. As duas maiores funções da testosterona são promover a diferenciação testicular e regular a função gonadal e a reprodutiva, pela sua ação local ou pela secundária, por meio da circulação fetal, demonstrando seu papel determinante no desenvolvimento do fenótipo e na programação do sistema nervoso central dos machos. O processo de diferenciação dos mecanismos neuronais masculinos que se destina a regular a fisiologia e o comportamento sexual na idade adulta, inicia-se durante a fase gestacional (Ward, 1974; Jost *et al.*, 1982). Esta diferenciação começa quando a síntese de testosterona torna-se completa (George e Wilson, 1994).

Trabalhos relatam o envolvimento das catecolaminas hipotalâmicas no processo de maturação sexual, sendo que a noradrenalina apresenta um papel facilitatório na secreção de GnRH, enquanto a dopamina apresenta papéis controversos, tanto estimulatório quanto inibitório (Barraclough *et al.*, 1982;

Raum *et al.*, 1986). Pode-se sugerir, pelos nossos dados, que o veneno administrado às mães no 16º dia de gestação retarda esse processo.

De uma maneira geral, podemos sugerir que a administração do veneno do escorpião *Tityus bahiensis*, durante o período da gestação materna, possa ter prejudicado os processos fisiológicos envolvidos com a puberdade de ratos machos e fêmeas.

A maturação pós-natal da atividade motora do rato ocorre através dos seguintes processos comportamentais: desenvolvimento da postura e locomoção quadrúpede, ajustes dinâmicos posturais, algumas respostas de orientação e habilidades motoras complexas (Altman e Sudarshan, 1975). O estudo do desenvolvimento comportamental dos filhotes permite a avaliação da maturidade dos sistemas que controlam diversos reflexos.

O reflexo de preensão palmar é um reflexo medular que envolve respostas motoras do animal, sendo um dos poucos reflexos que diminuem com o desenvolvimento do animal (Deiró *et al.*, 2006).

Em nossos resultados, os filhotes de mães tratadas no 10º dia de gestação apresentaram diminuição da latência para a ocorrência do reflexo no 8º dia de vida, em fêmeas e em machos. Os filhotes de mães tratadas no 16º dia de gestação apresentaram diminuição da latência de ocorrência do reflexo em fêmeas no 6º e no 8º dia de vida e, nos machos foi observada uma diminuição do tempo para ocorrência do reflexo no 8º dia de vida. Isso pode sugerir que a administração do veneno no período gestacional, pode ter causado alterações na maturação medular dos animais. Somente estudos mais detalhados poderiam comprovar este fato.

O reflexo de endireitamento ou postural é medido pelo tempo que um animal, colocado apoiado sobre as costas, consegue voltar à posição original. Animais recém-nascidos demoram cerca de 3 minutos para voltarem à posição normal e à medida que o mesmo desenvolve-se, o tempo necessário para a sua execução diminui gradativamente (Patin *et al.*, 2004). Três sistemas estão

envolvidos na regulação postural: o vestibular, o exteroceptivo (tátil) e o proprioceptivo (Altman e Sudarshan, 1975).

Os resultados desse trabalho mostram que os filhotes machos de mães tratadas no 10º dia gestacional apresentaram diminuição da latência para a ocorrência desse reflexo no 4º dia de vida.

As reações de geotaxia compreendem respostas de girar a cabeça para cima quando os animais são colocados em um plano inclinado com a cabeça para baixo. No 5º dia de vida, filhotes de ratos são capazes de girar todo o corpo em um ângulo de 180º e a partir deste dia o tempo necessário para que o reflexo ocorra diminui gradativamente (Alteman e Sudarshan, 1975).

Nesse trabalho, os filhotes fêmeas e machos, de mães tratadas no 16º dia gestacional, submetidos ao teste de reflexo de geotaxia negativa apresentaram aumento da latência para a ocorrência desse reflexo no 6º e 12º dia de vida.

Os reflexos de geotaxia negativa e postural refletem as funções do sistema vestibular, dependendo de estruturas do tronco encefálico que são as primeiras a chegar à maturidade (Patin *et al.*, 2004) estando envolvidas com a relação espacial dos animais.

Um atraso na maturação do reflexo de geotaxia negativa sugere um atraso na maturação das estruturas nervosas envolvidas na habilidade motora, particularmente no cerebelo. Quanto ao reflexo postural, um atraso no seu desenvolvimento pode indicar uma alteração na mielinização (Patin *et al.*, 2004).

Com essas alterações reflexológicas nos filhotes, podemos sugerir que o veneno pode estar influenciando nas funções do sistema vestibular, provocando alterações na maturação cerebral e na função do tronco encefálico. Neste caso, apenas estudos mais detalhados poderiam determinar os mecanismos envolvidos nesse processo.

O desenvolvimento da atividade motora, no rato, ocorre ainda durante o período de lactação. Assim, observa-se um aumento da locomoção no 15º dia

da lactação; a seguir a atividade decresce e ao desmame os níveis de atividade são similares aos animais na idade adulta (Reiter e MacPhal, 1982). Com isso, se um determinado agente retardar ou adiantar o desenvolvimento motor e este fenômeno for examinado em apenas um momento, este se expressaria, muito provavelmente, por um aumento ou decréscimo do nível da atividade dos animais. Assim, torna-se necessário o estudo temporal dos filhotes para se determinar um provável efeito tóxico do agente em questão.

Com relação à atividade motora dos filhotes da prole de mães que receberam veneno no 16º, foi verificado aumento da atividade de locomoção e da atividade geral no 18º dia de vida dos machos. Isso pode sugerir que a exposição pré-natal ao veneno produz alterações sutis no padrão de respostas da freqüência motora de machos. Também neste caso somente estudos mais detalhados do desenvolvimento neuronal poderão trazer respostas mais conclusivas. Vale lembrar que animais nas mesmas condições experimentais, mães tratadas no 16º dia gestacional, não tiveram alteração na atividade geral e locomotora na idade adulta (tabela 14 e 15).

Vários estudos têm mostrado que o estresse pré e pós-natal podem ter importantes conseqüências físicas e comportamentais a longo prazo, em roedores (Poltyrev *et al.*, 1996; Weinstock *et al.*, 1988). O estresse pré-natal causa alterações como hiperatividade (Weller *et al.*, 1988), aumento da emocionalidade (Poltyrev *et al.*, 1996; Weinstock *et al.*, 1997), deficiência cognitiva (Grimm *et al.*, 1987; Smith *et al.*, 1981).

Muitos dos efeitos causados por substâncias tóxicas administradas a mães durante a gestação e a lactação que resultam em diferenças no tempo médio de maturação dos reflexos e do desenvolvimento físico dos recém-nascidos podem refletir na idade adulta como modificações sutis de comportamentos específicos.

Os efeitos do estresse pré-natal no comportamento e desenvolvimento da prole são provavelmente mediadas por anomalias funcionais e/ou anatômicas na ontogênese do sistema nervoso central, pois se sabe que o

estresse altera o seu desenvolvimento (Famelli *et al.*, 1995; Guo *et al.*, 1993; Pollard, 1984), particularmente o eixo hipotalâmico adrenocortical (HPA) que é hiperativo na prole de fêmeas que sofreram algum tipo de estresse na gestação (Alonso *et al.*, 1991; Cratty *et al.*, 1995; Henry *et al.*, 1994; Takahashi *et al.*, 1991).

De fato, a exposição perinatal aumenta os níveis de corticosteróide resultando em comportamentos sociais e exploratórios adversos e demora no desenvolvimento motor da prole (Schneider, 1992; Schneider *et al.*, 1999). Nesse sentido, os animais provenientes de mães tratadas no período gestacional com o veneno do *Tityus bahiensis* sofreram estresse pré-natal, já que esse veneno causa dor quando injetado na mãe e, portanto, devido a esses fatos, os filhotes podem apresentar algum efeito adverso em relação ao seu desenvolvimento.

Em roedores, as habituações do comportamento geralmente são analisadas quanto à locomoção e o comportamento exploratório, especialmente durante a exposição do animal a uma arena de campo aberto, o que leva a atividade comportamental (Cerbone *et al.*, 1994; Groves *et al.*, 1970; Lát, 1973). Essencialmente, a diminuição da locomoção e da atividade de exploração são consideradas como um modelo experimental da mais simples forma de aprendizado em animais colocados repetidamente dentro da mesma área experimental (Hlinak *et al.*, 2005).

Foi verificado que o comportamento exploratório, em roedores, parece ser sexualmente diferente. As fêmeas mostram alta atividade locomotora, baixo nível de emocionalidade e lenta habituação com relação aos machos (De Cabo de la Veja *et al.*, 1995; Dubovicky *et al.*, 1997; Nasello *et al.*, 1998). Os machos têm baixa intensidade do comportamento exploratório e habituação mais rápida do que as fêmeas correspondentes (Dubovicky *et al.*, 1997; McGivern *et al.*, 1984).

A atividade de locomoção e a habituação são relacionadas ao hipocampo e a entrada de acetilcolina no hipocampo (Blockland *et al.*, 1996; Carlton, 1968;

Fibiger, 1991; Izquierdo *et al.*, 1992; Williams *et al.*, 1974) e o comportamento exploratório de levantar é relacionado ao mecanismo glutamatérgico hipocampal (Cerbone *et al.*, 1994). É possível considerar que um desequilíbrio relativo que danifica esses dois mecanismos pode ser um fator decisivo no comportamento dos animais que são colocados repetidamente na mesma área (Hlinak *et al.*, 2005).

A atividade geral tem se destacado como índice para avaliar mudanças comportamentais induzidas em animais, não só por manipulações fisiológicas e genéticas, como também toxicológicas (Bernardi e Palermo-Neto, 1979). A atividade geral dos animais está relacionada com o sistema dopaminérgico e a maior ou menor atividade motora do animal reflete o seu grau de emocionalidade.

Em nossos resultados, os machos provenientes da prole de mães tratadas no 10º dia de gestação analisados na caixa de atividade, aos 2 meses de idade, tiveram uma diminuição da atividade geral e da atividade locomotora. Isso pode sugerir, que os machos se habituaram com mais facilidade ao ambiente. A administração do veneno no período pré-natal pode ter induzido essa alteração motora nos animais.

Ratos estressados no período pré-natal, também mostram alto comportamento de emocionalidade, em algumas situações estressantes como a do labirinto em cruz (Vallee *et al.*, 1997), estresse de contenção (Maccari *et al.*, 1995), exposição a novidades (Deminiere *et al.*, 1992; Weiss *et al.*, 1999) ou natação forçada (Morley-Fletcher *et al.*, 2003).

Um tipo de estresse é a exposição a um ambiente novo. A novidade cria um conflito entre um desejo instintivo para explorar e a neofobia (medo de novas condições). Nos modelos exploratórios, a atividade emocional é avaliada pela frequência de comportamentos como a locomoção e o levantar, com a suposição que o comportamento exploratório é reflexo de baixa ansiedade (Roy *et al.*, 2004).

O teste de ambiente enriquecido é um teste que visa analisar o estado de emocionalidade e de ansiedade do animal, onde o animal é exposto a uma situação nova e a um estímulo exploratório e sua frequência motora e exploratória são avaliadas. Os animais no ambiente enriquecido gastam relativamente mais tempo explorando o ambiente e procurando estímulos não familiares a eles (Joseph *et al.*, 1980; Larsson *et al.*, 2002; Schrijver *et al.*, 2002; Widman *et al.*, 1990). O ambiente enriquecido também diminui a emocionalidade resultante do estresse pré-natal (Harrison *et al.*, 2006).

O ambiente enriquecido estabelece aumento de oportunidades para interagir com um conjunto de coisas inanimadas e estímulos sociais e de exploração do ambiente (Rosenzweig *et al.*, 1978; Roy *et al.*, 2001). Tem sido descrito como uma intensificação contínua da atividade cognitiva, atividade sensomotora e/ou da atividade física (Mattson *et al.*, 2001).

A exposição ao ambiente enriquecido durante a vida adulta tem se mostrado capaz de modificar aspectos do comportamento de roedores, como diminuir a ansiedade no labirinto em cruz elevado (Benaroya-Milshtein *et al.*, 2004) e acelerar a habituação da atividade exploratória em resposta a novidade (Schrijver *et al.*, 2002; Zimmermann *et al.*, 2001).

Em nossos resultados, os machos adultos de proles de mães tratadas no 10º dia gestacional, analisados no ambiente enriquecido, apresentaram diminuição da atividade geral e locomotora e, não houve alteração na exploração do ambiente. Isso pode sugerir que esses animais não têm altos níveis de ansiedade e possuem motivação para explorar o ambiente. Os animais podem ter se habituado com maior facilidade ao novo ambiente já que os machos têm baixa intensidade de exploração o que pode justificar essa diminuição da atividade. Ou a administração do veneno pode ter causado alguma alteração motora nos animais. Vale lembrar que na caixa de atividade sem estímulos novos (experimento 4; tabela 14 e 15) os machos filhos provenientes de mães tratadas no 10º dia de gestação têm diminuição da atividade motora.

Os animais na idade adulta, também foram submetidos ao teste de natação forçada que é um teste experimental para se testar depressão (Drago *et al.*, 1999). O teste é baseado na observação de que os ratos seguem inicialmente movimentos de fuga orientada e posteriormente desenvolvimento de postura de flutuação imóvel no cilindro de água, na sessão de treinamento. Quando os animais são colocados de volta no cilindro de experimentação, 24 horas depois, eles retornam a essa postura rapidamente (Zangen *et al.*, 2005).

Essa postura foi interpretada por Porsolt *et al.* (1977) como a que leva o animal a um estado de desespero, que é induzido pela situação inescapável aprendida durante a primeira sessão do teste, a sessão de treinamento. A soma total do tempo que o animal demonstra esse comportamento é registrada e depois avaliada. Porsolt *et al.* (1977) descrevem a postura de imobilidade como a manutenção somente dos movimentos necessários para manter o animal com a cabeça acima da água.

Animais estressados no período pré-natal são caracterizados por altos níveis de ansiedade e alterações tipo depressivas como aumento do sono paradoxal (Dugovic *et al.*, 1999) e da imobilidade no teste de natação forçada (Morley-Fletcher *et al.*, 2003). A diminuição na latência para parar de nadar e não no tempo de imobilidade, sugere que isso seja causado por alterações motoras dos animais (Lazarini, 1997).

Na natação forçada, as fêmeas adultas provenientes de mães tratadas no 10º dia gestacional, apresentaram diminuição na latência para parar de nadar. Com isso, podemos sugerir que a administração do veneno no período gestacional, pode ter causado alguma alteração motora nas fêmeas, apesar de não ter sido evidenciada na caixa de atividade e, não alteração nos índices de ansiedade já que a imobilidade desses animais não foi alterada.

Outro teste a que os animais na idade adulta foram submetidos é o de interação social. Neste teste os ratos passam mais tempo na atividade de interação social, quanto menos ansiosos eles estão (Patin *et al.*, 2005). Isso pode sugerir que a exploração de um novo ambiente com um novo

companheiro poderia ser uma resposta adaptativa que leva a uma redução do estresse induzido pela novidade do aparelho. Parece, portanto, que a baixa latência de interação social de animais tratados no período pré-natal poderia ser um meio para reduzir o estresse produzido pela novidade (Patin *et al.*, 2005).

Na interação social, as fêmeas adultas provenientes de mães tratadas no 16º dia de gestação, apresentaram uma diminuição do tempo de interação entre as duplas. Com isso, pode se sugerir que esses animais têm um baixo nível de ansiedade e de estresse em relação a nova situação a que foram expostas junto com uma nova companheira.

File e Hyde (1979) mostraram que baixos escores na interação social são associados com o aumento basal de corticosteróide no plasma, e alta concentração de noradrenalina no hipotálamo. Eles também mostram que ACTH no plasma induz diminuição na interação social (File e Hyde, 1978). Isso sugere, que o estresse pré-natal pode induzir um aumento na emocionalidade do rato a longo prazo (Cabrera *et al.*, 1999).

Além dos testes comportamentais anteriores, os animais na idade adulta também foram submetidos ao teste de esquiva discriminativa no labirinto em cruz elevado. O labirinto em cruz elevado é um aparelho que consiste em dois braços abertos elevados em posição oposta a dois braços fechados por paredes combinando elementos não familiares, abertos e elevados (File, 1993). Esse teste tem sido mais freqüentemente utilizado para avaliar os efeitos ansiolíticos e ansiogênicos de drogas, desde que foi descrito e validado para ratos e camundongos (Handley *et al.*, 1984; Pellow *et al.*, 1985; Lister, 1987).

O labirinto em cruz elevado também tem sido usado para avaliar o comportamento nos níveis de ansiedade dos animais (Goto *et al.*, 1993). Este aparelho representa um modelo válido para estudar a ansiedade em ratos e é baseado na aparente aversão natural dos roedores a lugares abertos e altos. Um aumento ou uma diminuição no número de entradas e no tempo gasto nos braços abertos é atribuído, respectivamente, a uma redução ou um aumento no estado de emocionalidade do animal (Pellow, 1986).

O modelo de esquiwa discriminativa no labirinto em cruz elevado foi desenvolvido no Departamento de Farmacologia da Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (Silva *et al.*, 1997). Nesse novo modelo animal, os ratos ou camundongos são condicionados a escolher entre dois braços fechados (um braço aversivo e outro não-aversivo) enquanto esquiwa-se dos braços abertos do aparelho. É importante lembrar que o modelo de esquiwa discriminativa no labirinto em cruz elevado tem a vantagem ética de não envolver estímulos de dor como também choques elétricos, porque um suave estímulo aversivo aplicado (luz e barulho) é capazes de promover o aprendizado (Silva *et al.*, 1997).

A esquiwa discriminativa no labirinto em cruz elevado fornece simultaneamente informação sobre a memória e os níveis de ansiedade dos mesmos animais avaliadas pelo tempo gasto nos braços abertos do aparelho (Silva *et al.*, 1997). A esse respeito, parece haver fortes relações entre a memória e a ansiedade. Alguns estudos têm mostrado que a ansiedade e a memória não estão apenas relacionadas entre si, mas a ansiedade poderia ser em fato, um passo necessário para a formação da memória (Mathews, 1990).

Muitos estudos demonstraram que o estresse pré-natal produz um aumento na exploração dos braços abertos no labirinto em cruz elevado. Com isso, animais que demonstram menos ansiedade passam mais tempo nestes braços, já os animais com elevado nível de ansiedade passam mais tempo nos braços fechados do aparelho (McDonald *et al.*, 1990; Pellow, 1985). A preferência pelos braços abertos pode referir-se a uma redução da ansiedade, estresse ou frustração (Hlinak *et al.*, 2005).

Dois mecanismos diferentes, um envolvido na emotividade e outro causado pela formação da memória poderia participar no desempenho comportamental do animal submetido ao labirinto em cruz elevado (Rodgers *et al.*, 1997).

Em nossos resultados, na sessão de treinamento, os machos que tiveram as mães tratadas no 10º dia de gestação, apresentaram aumento do

número de entradas no braço não-aversivo. Na sessão de teste os machos, apresentaram aumento do número de entradas no braço aberto, aumento do tempo de permanência nos braços abertos e diminuição no tempo de permanência no braço não-aversivo.

Na prole de mães tratadas no 16º dia gestacional, na sessão de treinamento, os machos, apresentaram aumento do tempo de permanência no braço aberto e diminuição do tempo de permanência no braço-não aversivo. Na sessão de teste, os machos, apresentaram aumento no tempo de permanência no braço aberto.

Com esses resultados, podemos sugerir que os machos provenientes de mães tratadas no 10º dia de gestação apresentaram maior ansiedade na sessão de treinamento ao serem submetidos a um novo ambiente. Na sessão de teste, parece que essa ansiedade diminuiu nesses animais já que eles passaram menos tempo no braço não-aversivo e aumentaram o número de entradas nos braços abertos, mostrando assim, um grau de ansiedade menor do que a do primeiro dia de teste. Também podemos sugerir que os machos provenientes de mães tratadas no 16º dia gestacional, na sessão de treinamento, não apresentavam muita ansiedade ao serem colocados em um novo ambiente, já que o tempo de permanência nos braços abertos aumentou e o tempo de permanência no braço não-aversivo diminuiu. Na sessão de teste, parece que essa ansiedade dos animais continuou baixa já que estes permaneceram maior tempo nos braços abertos do labirinto em cruz.

Não há evidências, por este tipo de teste, que tenha havido alterações no aprendizado dos animais dos grupos experimentais.

Após a análise comportamental dos filhotes na idade adulta, os animais foram perfundidos para a retirada do cérebro para a análise histopatológica. Outros filhotes logo após no nascimento, aos dois e aos sete dias de vida também tiveram seus cérebros retirados para análise das áreas hipocampais.

Poucos estudos têm mostrado os efeitos do estresse gestacional na morfologia cerebral nos animais. Nestes, alterações estruturais significantes

foram documentadas no hipocampo, no córtex pré-frontal e em núcleos hipotalâmicos (Weinstock, 2001). Um estresse entre o 13º e o 15º dia de gestação do rato pode afetar o desenvolvimento dos núcleos supra-ópticos e paraventriculares do hipotálamo e da regulação do eixo hipotalâmico hipofisário. Já um estresse entre o 15º e o 21º dias de gestação do rato resultam em 30% de redução das sinapses hipocâmpais (Hayashi *et al.*, 1998). O estresse que ocorre mais tardiamente, ou seja, após o nascimento, pode afetar áreas hipocâmpais (Weinstock, 2001).

Em nossos resultados, filhotes adultos que tiveram as mães tratadas durante o 10º dia do período gestacional apresentaram redução do número de células neuronais nas áreas hipocâmpais de CA1 e CA3, o que pode justificar as alterações comportamentais observadas nos animais nesta idade. Já os filhotes, analisados no segundo e no sétimo dia de vida, que tiveram as mães tratadas no mesmo período gestacional não apresentaram alterações no número de células neuronais.

Levando-se em consideração os resultados apresentados neste trabalho, a administração do veneno no período gestacional em uma dose que causa um envenenamento moderado, mesmo sem causar intoxicação materna, foi capaz de provocar alterações no desenvolvimento físico e reflexológico dos filhotes no período pós-natal.

Apesar do estresse sofrido pelas mães na administração do veneno, os efeitos observados na prole na idade adulta, não parecem ser devidos a isto, pois classicamente, o estresse pré-natal causa aumento da atividade geral, aumento da emocionalidade, aumento da ansiedade e déficit de aprendizado. Alterações estas que não são encontradas nos nossos experimentos. Desta maneira, as alterações aqui observadas parecem ser efeito direto do veneno quando administrado na fase pré-natal e não consequência do estresse provocado pelo tratamento.

Devido à alta toxicidade do veneno escorpiónico e da crescente exposição humana a peçonhas dos escorpiões, é preocupante o provável efeito

do veneno durante o período gestacional. Com isso, esse estudo pode contribuir para o esclarecimento e geração de informação sobre o envenenamento escorpiónico em relação à toxicidade materna e da prole, guardadas as devidas diferenças entre animais experimentais e seres humanos.

## 6. CONCLUSÃO

Levando em consideração que:

Os filhotes de mães tratadas no 10º dia gestacional com 2,5mg/kg do veneno bruto de *Tityus bahiensis*, na fase pós-natal apresentaram:

- adiantamento no desdobramento das orelhas, erupção dos dentes incisivos e da abertura do canal vaginal;
- aumento de peso de machos e fêmeas no 14º e 20º dia de vida;
- diminuição da latência para a ocorrência do reflexo de preensão palmar no 8º dia de vida de filhotes machos;
- diminuição latência para a ocorrência do reflexo postural no 4º dia de vida de filhotes machos.

Os filhotes de mães tratadas no 16º dia gestacional com 2,5mg/kg do veneno bruto de *Tityus bahiensis*, na fase pós-natal apresentaram:

- adiantamento no desdobramento das orelhas e erupção dos dentes incisivos;
- retardo na abertura dos olhos e descida dos testículos;
- diminuição do peso de filhotes fêmeas no 2º dia de vida;
- aumento do peso de filhotes fêmeas no 20º dia de vida;
- diminuição da latência para a ocorrência do reflexo de preensão palmar no 6º e 8º dia de vida dos filhotes fêmeas;
- diminuição da latência para a ocorrência do reflexo de preensão palmar no 8º dia de vida dos filhotes machos;
- aumento da latência para a ocorrência do reflexo de geotaxia negativa no 6º e 12º dia de vida dos filhotes fêmeas;
- aumento da latência para a ocorrência do reflexo de geotaxia negativa no 6º e 12º dia de vida dos filhotes machos;
- aumento da atividade geral e da locomoção dos filhotes machos no 18º dia de vida.

Podemos concluir que a administração de uma dose de 2,5mg/kg do veneno bruto do *Tityus bahiensis* que é responsável por um envenenamento moderado, provoca alterações discretas nos parâmetros físicos e reflexológicos dos filhotes de mães tratadas no período gestacional.

Levando em consideração que:

Os filhotes de mães tratadas no 10º dia gestacional com 2,5mg/kg do veneno bruto de *Tityus bahiensis*, na idade adulta apresentaram:

- diminuição da atividade geral e de locomoção dos machos na caixa de atividade;
- aumento no tempo para parar de nadar das fêmeas no teste de natação forçada;
- diminuição da atividade geral e de locomoção dos machos no teste de ambiente enriquecido, sem alteração da exploração desses animais;
- aumento no número de entradas no braço não-aversivo e dos braços abertos do labirinto em cruz elevado, na sessão de treinamento;
- diminuição do tempo de permanência no braço não-aversivo do labirinto em cruz elevados, na sessão de teste;
- aumento do tempo de permanência nos braços abertos do labirinto em cruz elevados, na sessão de teste;
- perda neuronal significativa nas áreas hipocâmpais de CA1 e CA3.

Os filhotes de mães tratadas no 16º dia gestacional com 2,5mg/kg do veneno bruto de *Tityus bahiensis*, na idade adulta apresentaram:

- diminuição do tempo de interação social de fêmeas
- diminuição do tempo de permanência no braço não-aversivo do labirinto em cruz elevado, na sessão de treinamento;

- aumento do tempo de permanência no braço não-aversivo do labirinto em cruz elevado, na sessão de treinamento;
- aumento do tempo de permanência no braço não-aversivo do labirinto em cruz elevado, na sessão de teste.

Podemos concluir que a administração de uma dose de 2,5mg/kg do veneno bruto do *Tityus bahiensis* que é responsável por um envenenamento moderado, provoca alterações discretas nos parâmetros comportamentais da prole na idade adulta.

De modo geral, o período e a dose administrada as mães, causa alterações comportamentais na prole, mas o efeito do veneno e do estresse materno não é de caráter deletério para os conceptos tanto no período pós-natal quanto na idade adulta.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU JG, KETPURA NI, RESERSADE B, DE ROBERTIS EM. Connective tissue growth factor (CTGF) modulates cells signaling by BMP and TGFB. *Nature Cell Biology*, 2002; 4: 599-604.

ALONSO SJ, AREVALO R, AFONSO D, RODRIGUEZ M. Effects of maternal stress during pregnancy on forced swimming test behavior of the offspring. *Physiology and Behavior*, 1991; 50: 511 – 517.

ALTEMAN J, SUDARSHAN K. Postnatal development of locomotion in the laboratory rat. *Animal Behavior*, 1975; 23: 896-920.

ALVES RS, NASCIMENTO NRF, BARBOSA PSF, KERNTOPF MR, LESSA LMA, SOUSA CM, MARTINS RD, SOUSA CM, SOUSA DF, QUEIROZ MGR, TOYAMA MH, FONTELES MC, MARTINS AMC, MONTEIRO HSA. Renal effects and vascular reactivity induced by *Tityus serrulatus* venom. *Toxicon*, 2005; 46: 271-276.

BARÃO AAS. Efeitos comportamentais e físicos do veneno total de *Tityus serrulatus* na prole de mães tratadas durante a prenhez. [Mestrado]. São Paulo: Programa de Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria do Estado de São Paulo; 2006.

BARRACLOUGH CA, WISE PM. The role of catecholamines in the regulation of pituitary luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone secretion. *Endocrinology*, 1982; 3: 91 – 119.

BECERRIL B, CORONA M, CORONAS FIV, ZAMUDIO F, CALDERON-ARANDA ES, FLETCHER PL, MARTINS BM, POSSANI LD. Toxic peptides and

genes encoding toxins  $\gamma$  of the Brazilian scorpions *Tityus bahiensis* and *Tityus stigmurus*. *Biochemical Journal*, 1996; 313: 753 – 760.

BECERRIL B, MARANGONI S, POSSANI LD. Toxins and genes isolated from scorpions of the genus *Tityus*. *Toxicon*, 1997; 35: 821-835.

BENAROYA-MILSHTEIN N, HOLLANDER N, APTER A, KULULANSKY T, RAZ N, WILF A, *et al.* Environmental enrichment in mice decreases anxiety, attenuates stress responses and enhances natural killer cell activity. *European Journal of Neuroscience*, 2004; 20: 1341 – 1347.

BERNARDI MM. Exposição aos elementos durante o período perinatal. In: SOUZA-SPINOZA H, GÓRNIAC S L, BERNARDI M M. *Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999. p. 566-574.

BERNARDI MM, PALERMO-NETO J. Effects of abrupt and gradual withdrawal from long-term haloperidol treatment and open field behavior of rats. *Psychopharmacology*, 1979; 65: 247 – 250.

BIKFALVI A, KLEIN S, PINTUCCI G, RIFKIN DB. Biological Roles of Fibroblast growth factor-2. *Endocrine Reviews*, 2005; 18: 26-45.

BLOKLAND A. Acetylcholine: a neurotransmitter for learning and memory? *Brain Research Reviews*, 1996; 21: 285 – 300.

BOTTNER M, KRIEGLSTEIN K, UNSICKER K. The transforming growth factor B s: structure, signaling and roles in nervous system development and functions. *Journal Neurochemistry*, 2000; 75: 2227-2240.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde, Coordenação de Controle de Zoonoses e Animais Peçonhentos. *Manual de Diagnóstico e*

Tratamento de Acidentes por Animais Peçonhentos (Artrópodos e Peixes). Brasília, 1992.

BRASIL. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Centro de Vigilância Epidemiológica, Instituto Butantan. Manual de Vigilância Epidemiológica. Acidentes por animais Peçonhentos. Identificação, Diagnóstico e Tratamento. São Paulo, 1993.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação nacional de Saúde, Coordenação de Controle de Zoonoses e Animais Peçonhentos. Manual de Diagnóstico e Tratamento de Acidentes por Animais Peçonhentos. Brasília, 2001.

BUCARETCHI F, BARACAT ECE, NOGUEIRA RJN, CHAVES A, ZAMBRONE FAD, FONSECA MRCC, TOURINHO FS. A comparative study of severe scorpion envenomation in children caused by *Tityus bahiensis* and *Tityus serrulatus*. Revista do Instituto de Medicina Tropical São Paulo, 1995; 37: 331-336.

BÜCHERL W. Classification, Biology, and venom extraction of scorpions. In: BÜCHERL W, BUCKLEY E. Venomous Animals and Their Venoms: Venomous Invertebrates. New York: Academic Press; 1971. p. 317-347.

BÜCHERL W. Escorpiões e escorpionismo no Brasil. Memórias do Instituto Butantan, 1955; 25: 53-82.

CABRERA RJ, RODRIGUEZ-ECHANDIA EL, JATUFF ASG, FÓSCOLO M. Effects of prenatal exposure to a mild chronic variable stress on body weight, preweaning mortality and rat behavior. Brazilian Journal Medical and Biological Research, 1999; 32: 1229 – 1237.

CARBONE C, WANKE E, PRESPIPINO G, POSSANI LD, MAELICKE A. Selective blockage of voltage-dependent potassium channel by a novel scorpion toxin. *Nature*, 1982; 296: 90-91.

CARLTON PL. Brain-acetylcholine and habituation. *Progress in Brain Research*, 1968; 28: 48 – 60.

CARVALHO FF, NENCIONI, ALA, LEBRUN I, SANDOVAL MRL, DORCE VAC. Behavioral, electroencephalographic, and histopathologic effects of a neuropeptide isolated from *Tityus serrulatus* scorpion venom in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 1998; 60: 7-14.

CASTRO VLSS. Avaliação perinatal dos efeitos neurocomportamentais do Aldrin em ratos. [Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 1991.

CARBONE A, SADILE AG. Behavioral habituation to spatial novelty: interference and noninterference studies. *Neuroscience and Biobehavior Reviews*, 1994; 18: 497 – 518.

COHEN S. Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the newborn animal. *Journal of Biological Chemistry*, 1962; 237: 1555-1562.

COURAD F, JOVER E. Mechanism of Action of Scorpion Toxins. In: TU AT, DEKKER M. (Eds.) *Handbook of Natural Toxins, II. Insect Poisons, Allergens and Other Invertebrate Venoms*, 2<sup>a</sup> ed. New York and Basel: Marcel Dekker; 1983. p. 659-678.

CRATTY MS, WARD HF, JOHNSON EA, AZZARO AJ, BIRKLE DL. Prenatal stress increases corticotrophin-releasing factor (CRF) content and release in rats amygdale minces. *Brain Research*, 1995; 675: 297 – 302.

CRUTTENDEN K, NENCIONI ALA, BERNARDI MM, DORCE VAC. Embryotoxic effects of maternal exposure to *Tityus serrulatus* scorpion venom. *Reproductive Toxicology* (in press), 2007.

CUPO P, AZEVEDO-MARQUES MM, HERING SE. Escorpionismo. In: CARDOSO JLC, FRANÇA FOS, WEN FH, MÁLAQUE CMS, HADDAD JR V. *Animais Peçonhentos no Brasil*. São Paulo: Savier; 2003. p. 198 – 208.

DE BIN JA, MAGGIO JE, STRICHARTZ GR. Purification and characterization of chlorotoxin a chloride channel ligand from the venom of the scorpion. *American Journal of Physiology*, 1993; 264: C361-C369.

De CABO de la VEJA C, PUJOL A, PAZ VIVEROS M. Neonatally administered naltrexone affects several behavioral responses in adult rats of both genders. *Pharmacology and Biochemistry Behavior*, 1995; 50: 277 – 286.

DEIRÓ TCBJ, MANHÃES- DE- CASTRO R, CABRAL- FILHO JE, BARRETO-MEDEIROS JM, SOUZA SL, MARINHO SMOC, CASTRO FMM, TOSCANO AE, JESUS- DEIRO RA, BARROS KMFT. Sertraline delays the somatic growth and reflex ontogeny in neonate rats. *Physiology and Behavior*, 2006; 87: 338 - 344.

DEMNIERE JM, PIAZZA PV, GUEGAN G, ABROUS N, MACCARI S, Le MOAL M, SIMON H. Increased locomotor response to novelty and propensity to intravenous amphetamine self-administration in adult offspring of stresses mothers. *Brain Research*, 1992; 586: 135 – 139.

DORCE VAC, SANDOVAL MRL. Brazilian scorpion venoms: pharmacological aspects. *Ciência e Cultura*, 1992; 44: 187-191.

DRAGO F, Di LEO F, GIARDINA L. Prenatal stress induces body weight deficit and behavioural alterations in rats: the effects of diazepam. *European Neuropsychopharmacology*, 1999; 9: 239 – 245.

D'SUZE G, MONCADA S, GONZALEZ C, SEVCIK C, AGUILAR V, ALAGON A. Relationship between plasmatic levels of various cytokines, tumor necrosis factor, enzymes, glucose and venom concentration following *Tityus* scorpion sting. *Toxicon*, 2003; 41:367 – 375.

DUBOVICKY M, UJHAZY E, KOVACOVSKY P, RYCHLIK I, KALNOVICOVA T, NAVAROVA J, TURCANI P, DURISOVA M, GAJDOSIK A. Effects of long-term administration of stobadine on exploratory behaviour and on striatal levels of dopamine and serotonin in rats and their offspring. *Journal of Applied Toxicology*, 1997; 17: 63 – 70.

DUGOVIC C, MACCARI S, WEIBEL L, TUREK FW, VAN REETH O. High corticosterone levels in prenatally stressed rats predict persistent paradoxical sleep alterations. *Journal of Neuroscience*, 1999; 19: 8656 – 8664.

DUNCAN GE, SHEITMAN BB, LIEBERMAN JA. An integrative view of pathophysiological models of schizophrenia. *Brain Research Reviews*, 1999; 131: 250 - 264.

FAMELI M, KITRAKI E, STYLIANOPOULOU F. Maternal behavior of dams treated with ACTH during pregnancy. *Physiology and Behavior*, 1995; 57: 397 – 400.

FIBIGER HC. Cholinergic mechanisms in learning, memory and dementia: a review of recent evidence. *Trends in Neuroscience*, 1991; 14: 220 – 223.

FREIRE–MAIA L. Peripheral effects of *Tityus serrulatus* scorpion venom. *Journal of Toxicology- Toxins Reviews*, 1995; 14: 423-435.

FREIRE – MAIA L, CAMPOS JA. Pathophysiology and treatment of scorpion poisoning. In: OWNBY, C.L. and ODELL, G.V. (Eds). *Natural Toxins. Characterization, Pharmacology and Therapeutics*. Oxford: Pergamon Press; 1989. p. 139 -159

FRIDE E, DAN Y, FELDON J, HALEVY G, WEINSTOCK M. Effects of prenatal stress on vulnerability to stress in prepubertal and adult rats. *Physiology and Behavior*, 1986; 37: 681 – 687.

FRIDE E, WEINSTOCK M. Prenatal stress increases anxiety related behavior and alters cerebral lateralization of dopamine activity. *Life Science*, 1988; 42: 1059 – 1065.

FILE SE. One-trial tolerance to the anxiolytic affects of chlordiazepoxide in the plus-maze. *Psychopharmacology*, 1990; 100: 281 – 282.

FILE SE, HYDE JRG. A test of anxiety that distinguishes between the actions of benzodiazepines and those of other minor tranquillisers and of stimulants. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 1979; 11: 65 – 69.

FILE SE, HYDE JR. Can social interaction be used to measure anxiety? *British Journal of Pharmacology*, 1978; 62: 19 – 24.

GEORGE FW, WILSON JD. Sex determination and differentiation. In: KNOBIL E, NEILL JD. The Physiology of Reproduction, 2<sup>a</sup> ed. New York: Raven Press; 1994. p. 3 – 28.

GERTON GL, CUETO DL. The influence of growth factors on the development of preimplantation mammalian embryos. Archives of Medical Research, 2001; 32: 619-626.

GHALIM N, EL HAFNY B, SEBTI F, HEIKEL J, LAZAR N, MOUSTANIR R, BENSLIMANE A. Scorpion envenomation and serotherapy in Morocco. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 2000; 62: 277-283.

GOODSELL DS. The molecular perspective: epidermal growth factor. Stem Cells, 2003; 21: 702-703.

GOTO SH, CONCEIÇÃO IM, RIBEIRO RA, FRUSSA-FILHO R. Comparison of anxiety measured in the elevated plus-maze, open-field and social interaction tests between spontaneously hypertensive rats and Wistar EPM 1 rats. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 1993; 26: 965 – 969.

GOULART FC. Efeitos da administração pré-natal de um antagonista GABA<sub>a</sub>: Avaliação comportamental, bioquímica e morfológica da prole de ratos. [Mestrado]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 1999.

GOYFFON M, VACHON M, BROGLIO N. Epidemiological and clinical characteristics of the scorpion envenomation in Tunisia. Toxicon, 1982; 20: 337-344.

GRIMM VE, FRIEDER B. The effects of mild maternal stress during pregnancy on the behavior of rats pups. *International Journal of Neuroscience*, 1987; 35: 65 – 72.

GROVES PM, THOMPSON RF. Habituation: a dual-process theory. *Psychological Reviews*, 1970; 77: 419 – 450.

GUO A, NAPPI RE, CRISCUOLO M, FICARRA G, AMRAM A, TRENTINI GP, PETRAGLIA F, GENAZZANI AR. Effects of chronic intermittent stress on rat pregnancy and postnatal development. *European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology*, 1993; 51: 41 – 45.

HANDLAY SL, MITANI S. Effects of alfa-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze exploration model of 'fear'- motivated behavior. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives Pharmacology*, 1984; 327: 1- 5.

HARRISON C, FOX C, MERALI Z. Therapeutic and protective effect of environmental enrichment against psychogenic and neurogenic stress. *Behavior Brain Research*, 2006; 175: 1 – 8.

HAYASHI A, NAGAOKA M, YAMADA K, ICHITANI Y, MIAKE Y, OKADO N. Maternal stress induces synaptic loss and developmental disabilities of offspring maternal stress. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 1998; 16: 209 – 216.

HENRY C, KABBAJ M, SIMON H, LE MOAL M, MACCARI S. Prenatal stress increases the hypothalamo-pituitary-adrenal axis response in young and adult rats. *Journal of Neuroendocrinology*, 1994; 6: 341 – 345.

HERING SE, AZEVEDO-MARQUES MM, MENEZES JB, CUPO P. Características clínicas e epidemiológicas de 967 casos de escorpionismo. In: Anais do V Congresso Brasileiro de Toxicologia. Bahia. Brasil; 1987. p. 23.

HLINAK Z, GANDALOVICOVA D, KREJCI I. Behavioral deficits in adult rats treated neonatally with glutamate. *Neurotoxicology and Teratology*, 2005; 27: 465 – 473.

HSUEH AJW, JONES PBC. Extrapituitary actions of gonadotropin-release hormone. *Endocrine Reviews*, 1981; 2: 437 – 461.

ISMAIL M, ABD-ELSALAM MA, MORAD AM. Do changes in body temperature following envenomation by the scorpion *Leiurus quinquestriatus* influence the causes of toxicity? *Toxicon*, 1990; 28: 1265-1284.

ISMAIL M, ELLISON AC, TILMISANY AK. Teratogenicity in the rat of the venom from the scorpion *Androctonus amoreuxi*. *Toxicon*, 1983; 21: 177-189.

ISMAIL M, OSMAN OH, EL ASMAR MF. Pharmacological studies of the venom from the scorpion *Buthus minax*. *Toxicon*, 1973; 11 - 15.

ISMAIL M, OSMAN OH, GUMAA KA, KARRAR MA. Some pharmacological studies with scorpion (*pandinus exitialis*) venom. *Toxicon*, 1974; 12:75.

IZQUIERDO I, da CUNHA C, ROSAT R, JERUSALINSKY D, FERREIRA MBC, MEDINA JH. Neurotransmitter receptors involved in post-training memory processing by the amygdale, septum, and hippocampus of the rat. *Behavioral and Neural Biology*, 1992; 78: 16 – 26.

JI YH, HATTORI KEX, TERAOKAWA S. Molecular characteristics of four new depressant insect neurotoxins purified from venom of *Buthus martensi* Karsch by HPLC. Science in China, 1994; 37: 955-963.

JOSEPH R, GALLAGHER RE, Gender and early environmental influences on activity, over responsiveness, and exploration. Developmental Psychobiology, 1980; 13: 527 – 544.

JOST A, MAGRE S, AGELOPOUPOU R, CHARTRAIN I. Aspects of gonadal differentiation in mammals. In: CROISINGNANI PB, RUBIN BL, FRACCARO M. Genetic Control of Gamete Production and Function: Proceedings of the Seromo. Clinical Colloquia on Reproduction. 3<sup>a</sup> ed. London: Academic Press; 1982. p. 1 – 14.

KIRSCH GE, SKATTEBOL A, POSSANI LD, BROWN AM. Modification of Na<sup>+</sup> channel gating by an  $\alpha$  scorpion toxin from *Tityus serrulatus*. Journal of General Physiology, 1989; 93: 67-83.

LARSSON F, WINBLAND B, MOHAMMED AH. Psychological stress and environmental adaptation in enriched vs. impoverished housed rats. Pharmacology, Biochemistry and Behavior, 2002; 73: 193 – 207.

LÁT J. The analysis of habituation. Acta Neurologica, 1973; 33: 771 – 789.

LAZARINI CA. Efeitos da exposição materna pré- natal à deltametrina sobre o desenvolvimento pré e pós-natal e toxicidade tardia da prole de ratos. (Doutorado). São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 1997.

LEMONICA IP. Embriofetotoxicidade. In: OGA S. Fundamentos de Toxicologia. São Paulo: Atheneu; 1996. p. 85-94.

LISTER RG. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology*, 1987; 92:180 – 185.

LOURENÇO GA, LEBRUN I, DORCE VAC. Neurotoxic effects of fractions isolated from *Tityus bahiensis* scorpion venom (Perty, 1834). *Toxicon*, 2002; 40: 149 – 157.

LOURENÇO WR. The Scorpion Families and their geographic distribution. *The Journal of Venomous Animals and Toxins*, 2001; 7:3-23.

LOURENÇO WR, CLOUDSLEY-THOMPSON JL, CUELLAR O, VON EICKSTEDT VDR, BARRAVIEIRA B, KNOX MB. The evolution of scorpionism in Brazil in recent years. *The Journal of Venomous Animals and Toxins*, 1996.

LUCAS SM, MEIER J. Biology and distribution of scorpions of medical importance. In: MEIER J, WHITE J. *Handbook of Clinical Toxicology of Animals Venomous and Poison*. New York: CRC Press; 1995. p. 205 - 219.

MACCARI S, PIAZZA PV, KABBA J M, BARBAZANGES A, SIMON H, Le MOAL M. Adoption reverses the long-term impairment in glucocorticoid feedback induced by prenatal stress. *Journal of Neuroscience*, 1995; 15: 110 - 116.

MACHADO A. *Neuroanatomia Funcional*; Rio de Janeiro, Atheneu, 2000; 2:209.

MACHADO RP, CUNHA RO, VIEIRA OJO, RIBEIRO LA, TANAUS M. Epidemiologia do acidente escorpiónico em Uberaba e Municípios próximos,

1995 a 1997. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2000; 33: 399-400.

MANSON JM, KANG YJ. Test Methods for Assessing Female Reproductive and Developmental Toxicology. In: HAYES, A. W. Principles and Methods of Toxicology. New York: Raven Press; 1989. p. 311-358.

MATHEWS A. Why worry? The cognitive function of anxiety. Behavior Research Therapy, 1990; 28: 455 – 568.

MATTSON MP, DUAN W, LEE J, GUO Z. Suppression of brain aging and neurodegenerative disorders by dietary restriction and environmental enrichment: molecular mechanisms. Mechanisms of Ageing and Development, 2001; 122: 757 – 778.

McDONALD JW, JOHNSON MV. Physiological and pathophysiological roles of excitatory amino acids during central nervous system development. Brain Research, 1990; 15: 41 – 70.

McGIVEN RF, CLANCY AN, HILL MA, NOBLE EP. Prenatal alcohol exposure alters adult expression of sexually dimorphic behavior in the rat. Science, 1984; 244: 896 – 898.

MEHLER MF, KESSLER JA. Cytokines in the brain development. Advances in Protein Chemistry, 1998; 52: 223-251.

MILLER C, MOCZYDLOWSKI E, LATTORE R, PHILLIPS M. Nature. 1985; 313: 316-318.

MORLEY-FLETCHER S, DARNAUDERY M, KOEHL M, CASOLINI P, VAN REETH O, MACCARI S. Prenatal stress in rats predicts immobility behavior in the forced swim test. Effects of a chronic treatment with tianeptine. *Brain Research*, 2003; 989: 246 – 251.

NASELLO AG, Metodologia para estudos de Toxicologia Perinatal. *Biológico*, 1997; 59: 45-48.

NASELLO AG, MACHADO C, BASTOS JF, FELICIO LF. Sudden darkness induces a high activity-low anxiety state in male and female rats. *Physiology and Behavior*, 1998; 63: 541 – 544.

NENCIONI ALA, CARVALHO FF, LEBRUN I, DORCE VAC, SANDOVAL MRL. Neurotoxic effects of three fractions isolated from *Tityus serrulatus* scorpion venom. *Pharmacology and Toxicology*, 2000; 86: 149-155.

NISHIKAWA AK, CARICATI CP, LIMA MLRS, DOS SANTOS MC, KIPNIS TL, EICKSTEDT VRW, KNYSAK I, DA SILVA MH, HIGASHI HG, DIAS DA SILVA W. Antigenic cross-reactivity among the venoms from several species of brazilian scorpions. *Toxicon*, 1994; 32: 989-998.

NORTON S. Methods for behavioral toxicology. In: Hayes, AW. *Principles and Methods of Toxicology*. Raven Press; 1989. p. 553-571.

OJEDA SR, URBANSKI HF, AHMED CE. The onset of female puberty: Studies in the rat. *Recent Progress in Hormones Research*, 1986; 42: 385 – 442.

OJEDA SR, URBANSKI HF. In: KNOBIL E, NEILL JD. *The Physiology of Reproduction*. New York: Raven Press; 1994. p. 363 – 409.

OSMAN OH, ISMAIL M, EL-ASMAR MF, IBRAHIM SA. Effect on the rat uterus of the venom from the scorpion *Leiurus quinquestriatus*. *Toxicon*, 1972; 10: 363-366.

PATIN V, LORDI B, VINCENT A, CASTON J. Effects of prenatal stress on anxiety and social interactions in adult rats. *Developmental Brain Research*, 2005; 160: 265 – 274.

PATIN V, VINCENT A, LORDI B, CASTON J. Does prenatal stress affect the motoric development of rat pups? – *Developmental Brain Research*, 2004; 149: 85-92.

PFEFFER K. Biological functions of tumor necrosis factor cytokines and their receptors. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 2003; 14: 185 – 191.

PELLOW S, CHOPIN P, FILE SE, BRILEY M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, 1985; 14: 149 – 167.

PELLOW S, FILE SE. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus maze: a novel test of anxiety in the rat. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 1986; 24: 525 – 529.

POLLARD I. Effects of stress administered during pregnancy on reproductive capacity and subsequent development of the offspring of rats: prolonged effects on the litters of a second pregnancy. *Journal of Endocrinology*, 1984; 100: 301 – 306.

POLTYREV T, KESHET GI, KAY G, WEINSTOCK M. Role of experimental conditions in determining differences in exploratory behavior of prenatally stressed rats. *Developmental Psychobiology*, 1996; 29: 453 – 462.

PORSOLT RD, LE PICHON M, JALFRE M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*. 1977; 2: 266 – 730.

PORSOLT RD, MCARTHUR R, LENÈGRE A. Psychotropic screening procedures. In: VAN HAAREN F. *Methods in Behavioral Pharmacology*. Elsevier Science Publishers; 1993. p. 23-51.

RAUM WJ, SWERDLOFF RS. The effect of hypothalamic catecholamine synthesis inhibition by  $\alpha$ -methyltyrosine on gonadotropin secretion during sexual maturation in the male Wistar rat. *Endocrinology*, 1986; 119: 168 – 175.

REITER LW, MACPHAIL RC. Factors influencing motor activity measurements in neurotoxicology - *Nervous System Toxicology*, New York, Raven Press, 1982; 45-65.

ROCHAT H, DARBON H, JOVER E, MARTIN MF, BABLITO J, COURAUD F. Interaction of scorpion toxins with the sodium channel. *Journal of Physiology*, 1984; 79: 334-337.

RODGERS RJ, JOHNSON NJT, CARR J, HODGSON TP. Resistance of experimentally-induced changes in murine plus-maze behaviour to altered retest conditions. *Behavioral Brain Research*, 1997; 86: 71 – 77.

ROY V, BELZUNG C, DELARUE C, CHAPILLON P. Environmental enrichment in BALB/c mice: effects in classical tests of anxiety and exposure to a predatory odor. *Physiology and Behavior*, 2001; 74: 313 – 320.

ROY V, CHAPILLON P. Further evidences that risk assessment and object exploration behaviours are useful to evaluate emotional reactivity in rodents. *Behavioral Brain Research*, 2004; 154: 439 – 448.

ROSENZWEIG MR, BENNETT EL, HEBERT M, MORIMOTO H. Social grouping cannot account for cerebral effects of enriched environments. *Brain Research*, 1978; 153: 563 – 576.

SANDOVAL MRL, DORCE VAC. The envenomation by *Tityus serrulatus* scorpion venom in the rat: age and Sex influence. *Memórias do Instituto Butantan, São Paulo*; 1993. v. 55. p. 5-10.

SCHNEIDER ML. The effect of mild stress during pregnancy on birth-weight and neuromotor maturation in rhesus-monkey infants (Macaca Mulatta). *Infant Behavior and Development*, 1992; 15: 389 – 403.

SCHNEIDER ML, ROUGHTON EC, KOEHLER AJ, LUBACH GR. Growth and development following prenatal stress exposure in primates: an examination of ontogenetic vulnerability. *Child Development*, 1999; 70: 263 – 274.

SCHRIJVER NC, BAHR NI, WEISS IC, WURBEL H. Dissociable effects of isolation rearing and environmental enrichment on exploration, spatial learning and HPA activity in adult rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 2002; 73: 209 – 224.

SILVA RH, FRUSSA-FILHO, R. The plus-maze discriminative avoidance task: a new model to study memory – anxiety interactions. Effects of chlordiazepoxide and caffeine. *Journal of Neuroscience Methods*, 2000; 102: 117 – 125.

SMART JL, da SILVA VA, MALHEIROS LR, PAUMGARTTEN FJR, MASSEY RF. Epidermal growth advances some aspects of development but others in both rats and hamsters. *Journal of Developmental Physiology*, 1989; 11: 153-158.

SMART JL, DOBBING J. Vulnerability of developing brain. II. Effects of early nutritional deprivation on reflex ontogeny and development of behavior in the rat. *Brain Research*, 1971; 28: 85-95.

SMITH BL, WILLS G, NAYLOR D. The effects of prenatal stress on rat offsprings learning ability. *Journal of Psychology*, 1981; 107: 45 – 51.

SOARES MRM, AZEVEDO CS, MARIA M. Escorpionismo em Belo Horizonte, MG: um estudo retrospectivo. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 2002; 35(4): 359-363.

SORENSEN RG, SCHNEIDER MJ, ROGOWSKI RS, BLAUSTEIN MP. Snake and scorpion neurotoxins as probes of rat brain synaptosomal potassium channels In: *Progress in Clinical and Biological Research*, 1990; 334: 279-301.

STOTT DH. Follow-up study from birth of the effects of prenatal stresses. *Developmental Medicine and Child Neurology*, 1973; 15: 770 – 787.

TAKAHASHI LK, KALIN NH. Early developmental and characteristics of stress induced secretion of pituitary-adrenal hormones in prenatally stress rat pups. *Brain Research*, 1991; 558: 75 – 78.

TEIXEIRA JR AL, FONTOURA BF, FREIRE-MAIA L, MACHADO CRS, CAMARGOS ERS, TEIXEIRA MM. Evidence for a direct action of *Tityus serrulatus* scorpion venom on the cardiac muscle. *Toxicon*, 2001; 39: 703-709.

TORCHINSKY A, TODER V. To die or not to die: the function of the transcription factor NFkB in embryos exposed to stress. *American Journal of Reproductive Immunology*, 2004; 51: 138-143.

TORRES JB, MARQUES MGB, MARTINI RK, BORGES VA. Acidente por *Tityus serrulatus* e suas implicações epidemiológicas no Rio Grande do Sul. *Revista Saúde Publica*, 2002; 36(5): 631-633.

TREQUATTRINI C, ZAMUDIO FZ, PETRIS A, PRESTIPINO G, POSSANI LD, FRANCIOLINI F. *Tityus bahiensis* toxin IV-5b selectively affects Na channel inactivation in chick dorsal root ganglion neurons. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1995; 112: 21-28.

TRONCON LEA, SANTOS AA, GARBACIO VL, SECAF M, VERCEZE AV, CUNHA-MELO JR. Inhibition of gastric emptying and intestinal transit in anesthetized rats by *Tityus serrulatus* scorpion toxin. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 2000; 33(9): 1053-1058.

VALDIVIA H, POSSANI LD. Peptide toxin as probes of ryanodine receptor. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 1998; 8: 111-118.

VALLE M, MAYO W, DELLU F, LE MOAL M, SIMON H, MACCARI S. Prenatal stress induces high anxiety and postnatal handling induces low anxiety in adult offspring: correlation with stress-induced corticosterone secretion. *Journal of Neuroscience*, 1997; 17: 2626 – 2636.

RUPPERT EE, BARNES RD. *Zoologia dos Invertebrados*, 6<sup>a</sup>ed. São Paulo: Roca; 1984.

SCHMADEL S, SCHWABE K, KOCH M. Effects of neonatal excitotoxic lesions of the entorhinal cortex on cognitive functions in the adult rats. *Neuroscience*, 2004; 128: 365-374.

WAKSHLAK A, WEINSTOCK M. Neonatal handling reverses behavioral abnormalities induced in rats by prenatal stress. *Physiology and Behavior*, 1990; 48: 289 – 292.

WARD IL. Sexual behavior differentiation: prenatal hormonal and environmental control. In: FRIEDMAN RC, RICHARD RM, VAN de WIELE RL. *Sex Differences of Behavior*. New York: John Wiley; 1974. p. 3 – 17.

WEINSTOCK, M. Does prenatal stress impair coping and regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis? *Neuroscience and Biobehavior Research*, 1997; 21: 1-10.

WEINSTOCK M. Alterations induced by gestational stress in brain morphology and behavior of the offspring. *Progress in Neurobiology*, 2001; 65: 427 – 451.

WEINSTOCK M, FRIDE E, HERTZBERG R. Prenatal stress effects on functional development of the offspring. *Progress in Brain Research*, 1988; 73: 319 – 331.

WEINSTOCK M, MATLINA E, MAOR GI, ROSEN H, McEWEN BS. Prenatal stress selectively alters the reactivity of the hypothalamic pituitary adrenal system in the female rat. *Brain Research*, 1992; 595: 195 – 200.

WEISS EL, LONGHURST JG, MAZURE CM. Childhood sexual abuse as a risk factor for depression in women: psychosocial and neurobiological correlates. *American Journal of Psychiatry*, 1999; 156: 816 – 828.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)